



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado

Programa de Segunda Especialización en Medicina Humana

**Rol neuroprotector del sulfato de magnesio  
administrado paraenteral en animales de laboratorio  
previo a isquemia cerebral, estudio anatomopatológico**

**TESIS**

Para optar el Título de Especialista en Anestesia, Analgesia y  
Reanimación

**AUTOR**

Carlos Enrique CHIA ACEVEDO

Felipe Ismael MELÉNDEZ VELARDE

**ASESOR**

Haydee GONZALES CAPUÑAY

Lima, Perú

2006



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Chia, C., Meléndez, F. Rol neuroprotector del sulfato de magnesio administrado paraenteral en animales de laboratorio previo a isquemia cerebral, estudio anatomopatológico. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado; 2006.

---

**Nuestro más grato agradecimiento por su apoyo desinteresado al Dr. Luis Rivas M. (Jefe de Anatomía Patológica – HNDAC), sin cuyos sabios consejos hubiera sido imposible la realización del presente trabajo y a la Dra. Norma Fernández M. por su colaboración en la parte quirúrgica del estudio.**

Dedico el presente trabajo a mis padres Mena y Ernesto por su gran ayuda y tiempo durante la realización del presente trabajo.

Carlos Chia.

Dedico el presente trabajo a mis hijos Leonardo y Andrés por el estímulo constante y a María por su comprensión.

Felipe Melendez

# **ROL NEUROPROTECTOR DEL SULFATO DE MAGNESIO ADMINISTRADO PARAENTERAL EN ANIMALES DE LABORATORIO PREVIO A ISQUEMIA CEREBRAL, ESTUDIO ANATOMO PATOLÓGICO.**

AUTORES: Dr. Chia Acevedo Carlos Enrique, Dr. Meléndez Velarde Felipe Ismael

ASESOR: DRA HAYDEE GONZALES.

## **RESUMEN**

Los fármacos para prevenir las secuelas en los accidentes cerebrales son muchos pero con poca efectividad. En nuestro estudio queremos demostrar el rol neuroprotector del Sulfato de Magnesio para poder ser incluido como neuroprotector previo al evento vascular. El estudio experimental triple ciego se realizó en el bioterio del Hospital Nacional Daniel A. Carrión con 30 ratas blancas de laboratorio las que fueron divididas en 3 grupos, el grupo A o grupo control, el grupo B o grupo de dosis única con Sulfato de Magnesio y el grupo C con dosis repetidas de Sulfato de Magnesio. Se realizó el estudio experimental de acuerdo al protocolo. Los resultados fueron favorables para el Sulfato de Magnesio en los dos grupos que lo recibieron con un valor de  $p < 0.05$ ; también existiendo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos que recibieron Sulfato de Magnesio. Se concluye que si existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio con mejor evolución clínica e histopatológica en el grupo que recibió dosis sucesivas durante 5 días.

Palabras Clave: Neuroprotección, Sulfato de Magnesio, Isquemia cerebral aguda.

## **I. INTRODUCCIÓN**

Mucho se ha avanzado en la búsqueda de los factores de riesgo que permitan prevenir el daño encefálico o reducirlo. El encéfalo es un órgano muy exigente, no permite que las neuronas destruidas sean reemplazadas, no aceptan que sobrevivan si carecen de oxígeno, glucosa y otras sustancias que transporta la sangre, salvo por pocos minutos. Permite que en algunos casos, esté genéticamente determinado el suicidio o apoptosis de las neuronas, células irremplazables, mientras los otros órganos “aún gozan de buena salud”.

Cuando el tejido cerebral es sometido a isquemia aguda sufre dos tipos de daño: Uno inmediato y uno tardío. El inmediato que es por lo demás, irreversible, ocurre en el área que circunda al vaso ocluido, donde el flujo sanguíneo es igual a cero y se denomina core o centro. Rodeando al core hay una zona de penumbra, cuyo flujo sanguíneo ha disminuido notablemente, aunque sin llegar a desaparecer, aquí se producen cambios de tipo funcional. Si en esta zona de penumbra no se restituye el flujo sanguíneo cerebral, el daño celular se hace permanente.

Dentro de las variables que determinan este daño final, las más importantes son la magnitud de la reducción del flujo sanguíneo cerebral, su distribución (global o focal) y duración antes de la reperCUSión.

La isquemia cerebral no es un evento único sino un proceso, como tal es posible modificar su curso y alterar el resultado final. De los modelos experimentales, se desprende que intervenciones deben ser llevadas a cabo a la brevedad, idealmente en los minutos que siguen a la oclusión arterial; en animales ha demostrado ser útil la

modulación de la cascada isquémica, reduciendo el área final de necrosis, de estos modelos se ha aprendido que si se inicia la terapia al mismo tiempo que la isquemia, y antes de perfusión se obtiene un beneficio mayor y que la disminución del área de necrosis se alcanza sólo cuando la terapia se inicia en menos de una hora de iniciada la isquemia; resulta lógico pensar que si se actúa a diferentes niveles de la cascada isquémica, se podría alcanzar efectos significativos desde el punto de vista clínico. Las estrategias usadas hasta el momento por ejemplo la perfusión (trombólisis) intentar modificar la reducción del flujo sanguíneo; mientras que las terapias de Neuroprotección intentar modificar la cascada a partir de disminución de neurotransmisores excitatorios y en el futuro seguramente el objetivo será investigar opciones de intervención a nivel genético.

El principal factor que influye en el éxito de la terapia es el tiempo que se obtiene la perfusión cerebral. Cuando existe daño de la barrera hematoencefálica, la perfusión puede ocasionar edema cerebral y hemorragia. Sin embargo, aún en ausencia de estas alteraciones, la perfusión del tejido isquémico puede llevar a un aumento de la producción de radicales libres, expresión génica de citoquinas e inflamación que aumentan el daño celular(1, 2).

El magnesio, es uno de los elementos traza esenciales, juega un rol importante en mantener la función celular y corporal normal. La hipomagnesia, o la ingesta deficiente de magnesio en la dieta, presenta un incremento del riesgo de isquemia. El daño cerebral ocurre por la disminución secundaria en la concentración de Magnesio en el cerebro y en los fluidos corporales(29). El Magnesio es también uno de los



agentes terapéuticos usados en daño neuronal, tiene ventaja de su amplia disponibilidad, ser barato y tener pocos efectos secundarios.

En muchos estudios experimentales el tratamiento con magnesio mejora la función cerebral. En estudios en animales de experimentación sometidos a isquemia cerebral, el tratamiento con Magnesio reduce el volumen del infarto, inhibe la muerte neuronal y atenúa el déficit motor (36).

Investigaciones tendientes a buscar medios terapéuticos tempranamente sobre mecanismos implicados en la isquemia cerebral, han destacado los beneficios del empleo precoz del Sulfato de Magnesio como una alternativa potencial. El mecanismo exacto de acción de este ión no ha sido precisado, pero se especula que pudiera producir beneficios a través del intercambio del flujo sanguíneo cerebral, acción vasoconstrictora, antagonismo de la entrada de calcio intracelular e incluso, facilitar la recuperación de funciones celulares magnesio dependientes tales como los niveles de ATP y síntesis proteica. Estudios anteriores han demostrado además una disminución significativa de las secuelas incapacitantes y una menor morbilidad con nulos efectos colaterales.

En la revisión realizada de literatura internacional existen muchas referencias en el rol de la Neuroprotección cerebral. El uso de fármacos en los diferentes momentos de la cascada isquémica juega un papel importante en la misma, sin embargo aún no existe consenso. Por lo tanto realizamos el presente estudio para determinar si el Sulfato de Magnesio es una alternativa para la Neuroprotección corroborando la misma con el

estudio anatomopatológico en roedores sometidos encefalopatía isquémica (clipaje de arteria carótida).

Nuestros objetivos específicos en el presente trabajo son:

- Identificar la eficacia neuroprotectora del sulfato de magnesio paraenteral en animales de laboratorio previo a isquemia cerebral como dosis única.
- Identificar la eficacia neuroprotectora del sulfato de magnesio paraenteral en animales de laboratorio previa a isquemia cerebral como dosis repetidas.
- Comparar la eficacia neuroprotectora de ambos esquemas.
- Identificar cuáles son los efectos adversos producidos estos dos regímenes terapéuticos.

## II. MARCO TEORICO

Habitualmente, la función neuronal depende por completo del metabolismo oxidativo de la glucosa para obtener adenosintrifosfato (ATP) que es el sustrato energético necesario para todos los procesos celulares. Aunque tan sólo el 2% del peso corporal, el cerebro consume el 20% del oxígeno en reposo. La incapacidad para almacenar sustratos en el mismo y una elevada tasa metabólica son responsables de la sensibilidad relativa del cerebro a la falta de oxígeno (5).

El metabolismo cerebral puede dividirse en dos partes: la parte que dirige “la actividad” del encéfalo, es decir, la transmisión sináptica (metabolismo activo) y la parte necesaria para la integridad celular (metabolismo basal). Una gran parte del metabolismo basal está dedicado al mantenimiento de los gradientes iónicos transmembrana normales (para mantener el  $K^+$  en el interior de la célula y el  $Na^+$  y el  $Ca^+$  en el exterior de ésta). El resto del metabolismo basal se dedica a la síntesis de proteínas y neurotransmisores así como a otras funciones celulares básicas(1).

Cuando el aporte sanguíneo al cerebro es limitado puede producirse un daño isquémico en las neuronas. El cerebro es el órgano más sensible al daño isquémico. El suceso central que precipita la lesión es la reducción de la producción de energía como resultado del bloqueo de la fosforilación oxidativa. Esto causa una reducción del 95% en la producción de ATP por molécula de glucosa. Con este ritmo de producción los niveles de ATP disminuyen, lo que conduce a una pérdida de los mecanismos homeostáticos dependientes de energía. Además, durante la isquemia se interrumpe el aporte de glucosa así como la retirada de metabolitos. . Se reduce la actividad de las

bombas iónicas ATP – dependientes, aumentan los niveles intracelulares de sodio y calcio y disminuyen los de potasio. Estos cambios hacen que las neuronas se despolaricen y liberen aminoácidos excitadores como el glutamato, que descarga glutamato en el compartimiento extracelular cuando los gradientes iónicos para el sodio y potasio están alterados (2).

Los niveles elevados de glutamato aumentan la despolarización de las neuronas al activar los receptores para el ácido propiónico amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol (AMPA) y el ácido n-metil-d-aspartico, aumentando la conductancia para el ión sodio y potasio (4).

El receptor NMDA permite también la entrada de calcio. El glutamato también activa receptores metabotrópicos, que a través de un sistema de segundo mensajero pueden aumentar la liberación de calcio desde los depósitos intracelulares y activar otros procesos bioquímicos. Una vez que la concentración de Calcio alcanza un cierto nivel, se activan por su intermedio, proteasas intracelulares, que inician la "autodigestión" de los componentes celulares, con producción de radicales libres y óxido nítrico. En algún momento este proceso pasa del citoplasma al núcleo, y comienza la expresión génica de citoquinas: Factor de Necrosis Tumoral, Interleukina-1, moléculas de adhesión intercelular, que inician el proceso inflamatorio. Aumento de permeabilidad y migración de células inflamatorias. Dentro de las células que llegan al área en cuestión, juegan un rol muy importante los leucocitos que se adhieren a la microvasculatura, son activados allí y contribuyen al daño del tejido. El daño resultante del exceso de glutamato se ha denominado exitotoxicidad y se debe a la

actuación de los receptores del glutamato y a los cambios iónicos y bioquímicos acompañantes.(2, 3)

Añadido al aumento del flujo de entrada a través de los canales de membrana, el calcio del citosol aumenta por la reducción del bombeo de calcio desde la célula y el aumento de la liberación de calcio por las organelas intracelulares como la mitocondria y el retículo endoplásmico. Se cree que el nivel elevado de calcio en el citoplasma pone en marcha una serie de eventos que conducen al daño isquémico. Estos comprenden el aumento de la actividad de las proteasas y fosfolipasas. Las fosfolipasas aumentan el nivel de ácidos grasos libres, como el ácido araquidónico y radicales libres. Los radicales libres son generados también por la oxidación mitocondrial incompleta (2).

Uno de los radicales libres más nocivos es el peroxidonítrico que está formado por la combinación de óxido nítrico con otro radical libre (2). Los radicales libres lesionan las proteínas y los lípidos; los ácidos grasos libres interfieren con la función de la membrana. Durante la isquemia se produce una acumulación de lactato e hidrogeniones que desciende el pH y puede favorecer la formación de radicales libres(4). Todos estos procedimientos, unidos a la disminución de la capacidad de sintetizar proteínas y lípidos, contribuyen al daño irreversible provocado por la isquemia.

La activación de la fosfolipasa conduce a una producción excesiva de ácido araquidónico, que, durante la reoxigenación, puede formar eicosanoides, como tromboxanos, prostaglandinas y leucotrienos. Estas sustancias pueden inducir una

vasoconstricción intensa, reducir el flujo sanguíneo en el periodo postisquémico, alterar la barrera hematoencefálica y aumentar la formación de radicales libres tras la reperusión (4).

Los procedimientos que protegen frente al daño isquémico podrían interferir con los cambios celulares provocados por la isquemia. Además de estos eventos desencadenantes directos, el daño permanente se manifiesta tras horas o días después del episodio isquémico. Este daño diferido consiste en la necrosis y lisis de las neuronas seguidas de la infiltración por la microglia. La microglia, que tienen una función similar a la de los macrófagos en la periferia, puede lesionar aún más las neuronas circulantes. Los linfocitos, las células polimorfonucleares y los macrófagos pueden invadir el sistema nervioso, provocando un daño adicional (1). De hecho, el bloqueo de esta activación puede reducir el daño. También existe una muerte celular programada como resultado de la agresión. Esta muerte celular programada, que es similar a la muerte celular apoptótica durante el desarrollo neuronal puede ocurrir varios días después de la agresión inicial (4).

La isquemia experimental puede ser global o focal. En los estudios experimentales, la isquemia cerebral anterior es de tipo global y en muchos aspectos simula un paro cardiocirculatorio. En cambio la isquemia focal suele estar provocada por la oclusión de la arteria cerebral media y simula un ictus. La isquemia cerebral puede ser completa o incompleta, en función de la preservación del flujo sanguíneo en el área isquémica. También son de interés otros modelos de isquemia, como el del traumatismo craneoencefálico. (TEC) y la isquemia inducida por retractores cerebrales. Además, la lesión isquémica está producida por cambios en la relación entre el aporte de oxígeno

y de otros sustratos y el metabolismo cerebral. Ejemplos típicos son la anoxia / hipoxia, los eventos hipoglucémicos o excitatorios y la epilepsia (5).

Como resultado de los eventos antes expuestos, se producen una serie de eventos fisiopatológicos, muchos de los cuales actúan como mecanismos de retroalimentación positivos, empeorando la situación, incrementando la complejidad y severidad del efecto deletéreo. Tales fenómenos se relacionan a continuación:

- Edema cerebral vasogénico.
- Disrupción del intercambio iónico.
- Pérdida de la autorregulación vascular.
- Degeneración axonal y miélnica.
- Efecto de reperfusión.
- Vaso espasmo

### **ROL DEL CALCIO (23)**

Sin duda alguna la acción de este ión es fundamental, tanto en forma directa como indirecta. Cuando la concentración citoplasmática de calcio sobrepasa un límite, se activan distintas enzimas cuya acción es dañina para la célula; entre ellas tenemos:

- Fosfolipasa A, enzima que libera Ácido Araquidónico desde la membrana, formando radicales libres.
- Fosfolipasa C, que libera la reserva intracelular de calcio y aumenta la síntesis de Óxido Nítrico.

- Otras ejercen un daño directo, como Calpaína que produce proteólisis del citoesqueleto.
- El Complejo Calcio-Calmodulina activa Proteínas Kinasas (Kinasa II, Proteína Kinasa C) que fosforilan proteínas y alteran la homeostasis neuronal.

## **UMBRAL ISQUÉMICO**

En los experimentos realizados en gatos y monos sobre la oclusión reversible de la arteria cerebral media, la parálisis reversible se produce cuando el flujo sanguíneo cerebral disminuye a 23 ml/100g/min, mientras que la parálisis irreversible aparece con una reducción permanente del flujo sanguíneo cerebral a unos 17 – 18 (Heiss et al., 1976; Jones et al., 1981).

En animales de experimentación sometidos a isquemia cerebral aguda mediante la ligadura de la carótida se ha definido un umbral isquémico del flujo sanguíneo cerebral en 20 ml/100 g/ min. Por debajo de este límite, la resonancia magnética de espectroscopia muestra fracaso metabólico, con reducción de la fosfocreatina y del ATP. Estos cambios, asociados a la acumulación de lactato y a un descenso del pH intracelular, indican que el fallo de la función sináptica es una consecuencia directa del fracaso energético. En primates sometidos a oclusión de la arteria cerebral media, se ha observado que el pH del espacio extracelular se mantiene estable hasta unos valores de flujo sanguíneo cerebral de 20 ml/100 g/min; por debajo de este valor, el pH se reduce rápidamente, observándose un aumento del contenido de agua cerebral. Si se reduce a unos 10 ml/100 g/min, se produce un edema citotóxico como resultado del



paso de  $\text{Na}^+$  al interior de las células. Hasta que las células no han sido gravemente dañadas, el edema aún es reversible. Si el periodo de isquemia es demasiado prolongado, el fenómeno de reperfusión aumentará el edema cerebral (5).

## **PENUMBRA ISQUÉMICA**

En las regiones en las que los valores del flujo sanguíneo cerebral alcanzan entre 8 y 23 ml, el límite del fracaso de la transmisión sináptica se ha excedido parcial o completamente, pero aún no se ha producido un fracaso de la membrana. Este estado, denominado *penumbra isquémica*, ha alcanzado un interés considerable, dado que las medidas terapéuticas destinadas a aumentar el flujo sanguíneo cerebral teóricamente podrían restablecer la transmisión sináptica y reducir los déficits neurológicos. Los límites. Los resultados obtenidos han demostrado que existen distintos límites para el cese de la actividad eléctrica y para la pérdida de la homeostasis iónica debida a un fracaso energético manifiesto (4, 5).

Estos hallazgos conllevaron la definición de *penumbra isquémica* como aquellas áreas de tejido que contienen células no excitables eléctricamente pero esencialmente vivas. Los estudios realizados en gatos sometidos a estimulación cortical han demostrado que, tras una oclusión de la arteria cerebral media, incluso en las áreas de penumbra persiste cierto grado de reactividad al flujo, lo que sugiere que, en la penumbra, la microcirculación no experimenta una vasodilatación máxima (5).

## **INFARTO**

Si se sobrepasa el umbral isquémico, se produce necrosis celular y se desarrolla un infarto. Durante la isquemia cerebral completa se ha observado una vulnerabilidad selectiva del sector CA1 del hipocampo, del núcleo caudado y putamen, de las capas III – V del neocortex, las células de Purkinje del cerebelo y del núcleo reticular lateral del tálamo. En estudios en animales sobre la isquemia focal tras la oclusión de la arteria cerebral media se produce un área de isquemia bien delimitada en el territorio arterial ocluido. A diferencia del ictus leve, en el ictus grave la depleción de ATP, el descenso del pH intracelular y el descenso del cociente PCr/P<sub>i</sub> es más pronunciado. En la zona que rodea el infarto se ha observado un área con un flujo sanguíneo cerebral reducido y un aumento del consumo metabólico de glucosa (5).

## **DURACIÓN DE LA ISQUEMIA**

En los estudios realizados por Morawetz, Marcoux y colaboradores, se encuentra que la duración de la privación del flujo sanguíneo cerebral influye sobre el umbral isquémico; así, una reducción del flujo sanguíneo cerebral a 8 ml sólo se tolera durante aproximadamente 1 h. De todos modos, es posible restablecer la transmisión neuronal con un flujo sanguíneo cerebral de 10 – 12 ml mantenido durante menos de 2 – 3 h. Con una oclusión permanente de la arteria cerebral media, se produce una necrosis neuronal con un flujo sanguíneo cerebral entre 15 y 17 ml, mientras que un flujo sanguíneo cerebral de 18 a 23 ml se tolera durante más de dos semanas. Por otra parte Nordström y colaboradores, en estudios sobre isquemia completa de 30 minutos de duración observó una recuperación completa de la concentración de fosfocreatina y de

lactato, así como una recuperación de la carga energética de adenilato tras un periodo de recirculación de 90 minutos (5).

## **PROPAGACIÓN DE LA DEPRESION**

Parece ser una respuesta estereotipada del tejido cerebral cortical frente a un estímulo nocivo. Nedergaard en el año 1988 ha detectado una propagación de la depresión en áreas mal profundidas, y se postula que ello desempeña un papel en el desarrollo del daño neuronal selectivo. Durante la propagación de la depresión, un incremento del flujo sanguíneo cerebral durante un periodo de 2 a 3 minutos es seguido por una oligohemia cortical prolongada. La fase precoz del incremento del flujo sanguíneo cerebral no se detecta en ratas paralizadas conscientes; en cambio, se sigue observando una reducción prolongada del flujo sanguíneo cerebral durante 3 horas.

En las ratas, la activación de los canales de  $K^+$  sensibles al ATP ejerce un papel inhibitor sobre la hiperemia asociada a la propagación de la depresión cortical a través de un mecanismo sensible a la indometacina. (5).

## **AMINOÁCIDOS EXCITADORES.**

Entre éstos tenemos a el homocisteico, el aspártico y el glutámico, actúan sobre receptores asociados a canales iónicos, abren los canales de sodio, producen una despolarización de la membrana post sináptica y aumentan la actividad neuronal.

De estos aminoácidos el más importante es el glutamato, se origina en el ciclo de Kerbs su intermediario alfa oxoglutarato que por acción de enzimas se convierte en glutamato. Estas reacciones ocurren en todas las células. El glutamato es un aminoácido no esencial, no atraviesa la barrera hematoencefálica, es sintetizado a partir de la glucosa y precursores como la glutamina. En condiciones de reposo, la concentración de glutamato en el espacio extracelular es de 1 micromol, en el citoplasma presináptico es de diez milimoles y en las vesículas de almacenamiento es de cien milimoles. El gradiente entre el espacio extracelular y el citoplasma presináptico es sostenido por un mecanismo sodio dependiente. El gradiente entre las vesículas de almacenamiento y el citoplasma celular depende de una bomba ATPasa.

La glutamina se transforma en glutamato por acción de la glutamina sintetasa o glutaminasa en las vesículas de almacenamiento de las neuronas presinápticas las cuales migran hacia la membrana celular y por un proceso de exocitosis es excretado a la hendidura sináptica. Desde allí el glutamato puede seguir los siguientes caminos:

- Recaptación glial: vuelve a formar glutamina en la glía, por acción de la glutamina transferasa y se almacena como reserva en las mitocondrias de la primera neurona. Desde allí el ácido alfa ceto glutárico atraviesa la membrana mitocondrial y constituye el ciclo de la glutamina que tiene como función la energía neuronal.
- Recaptación presináptica: mediante una bomba Na/K reingresa a la célula, pero una porción de lo recaptado, por proceso de recaptación reversa y acción de

una bomba K/Na, vuelve a salir a la hendidura con gran liberación de radicales libres.

- Agonismo AMPA: se ubica en el sitio del agonista glutamato del receptor ácido propiónico alfa amino 3 hidroxil 5 metil 4 isoxazol, abriendo el canal de sodio.
- Agonismo NMDA: se ubica en el sitio del agonista glutamato del receptor n-metil d-aspartato, intentando estimular el canal iónico para la entrada de calcio.
- Agonismo de otros receptores: se ubica en el sitio de los agonistas glutamato de los receptores kainato y quisqualato.
- Agonismo metabotrópico: a este nivel el glutamato actúa como aminoácido excitatorio a nivel del receptor proteico en el glicocáliz de la neuroteca y se combina con la adenil ciclasa para activar el segundo mensajero: cAMP.

### **CARACTERÍSTICAS DEL RECEPTOR AMPA (17, 18, 19, 20, 21, 22)**

- Presenta el sitio para el agonista glutamato.
- Presenta el sitio para los moduladores positivos ciclotiazida y aniracetam.
- Presenta los sitios para los antagonistas NBQX, GYKI y zinc.
- Presenta el sitio del canal iónico por el que entra mayormente sodio y sale potasio, entrando sólo determinada cantidad de calcio en el grupo de la subfamilia GluR2.

- Presenta el bloqueador del canal iónico toxina de araña venenosa.
- Este receptor tiene cuatro subtipos a saber: GluR1-GluR2-GluR3-GluR4.
- Solamente el GluR2 presenta una isoforma Q/R.

### **CARACTERISTICAS DEL RECEPTOR NMDA(17, 18, 19, 20, 21, 22)**

- Presenta el sitio para el agonista glutamato.
- Presenta el sitio para coagonista glicina, indispensable para la regulación del canal iónico.
- Presenta el sitio de las poliaminas moduladoras positivas, espermina, espermidina y arcaina.
- Presenta el sitio de los antagonistas 2 amino 5 fosfovalerato, 7 cloroquinuretano y zinc.
- Presenta el sitio del canal iónico por el que penetra calcio en gran cantidad y sodio en menor grado y sale potasio.
- Presenta los bloqueadores del canal iónico: competitivo magnesio y no competitivo memantine y MK801.
- El MK801 nunca pasó de la fase de experimentación in vitro ya que al presentar muy alta afinidad por el receptor no lo liberaba rápidamente y resultaba neurotóxico.
- En cambio la memantina presenta baja afinidad por el receptor NMDA liberándolo rápidamente lo que permite su acción de Neuroprotección y aumento de la potenciación a largo plazo de la memoria y de la plasticidad neuronal.

- Este receptor tiene cinco subtipos a saber: NMDAR1 con ocho isoformas: NMDAR1A hasta NMDAR1H. NMDAR2A-NMDAR2B-NMDAR2C y NMDAR2D, éste último con dos isoformas: NMDAR2D-1 y NMDAR2D-2.

### **CARACTERISTICAS DEL RECEPTOR METABOTROPICO (17, 18, 19, 20, 21, 22)**

El glutamato como neurotransmisor excitatorio llega al glicocáliz de la neuroteca del receptor, se une a él y se combina con la adenil ciclasa. Ésta interactúa sobre el sistema adenosin trifosfórico activando al adenosin monofosfórico cíclico poniéndose en marcha el segundo mensajero por interacción de la fosfodiesterasa. Prosigue la cascada molecular activando a la proteínquinasa inactiva a proteínquinasa activa. Se moviliza el tercer mensajero cuya energía depende de la degradación de adenosin trifosfórico a adenosin difosfórico con participación del magnesio. Posteriormente entra en acción el sistema flavinquinasa que de inactiva pasa a ser activa quedando fósforo libre y engarzando con el sistema de microtúbulos y filamentos. La flavinquinasa inactiva o defosforilada facilita la actividad de los microtúbulos como respuesta funcional y la flavinquinasa activa o fosforilada inhibe la actividad de los microtúbulos como respuesta funcional. Todo este proceso está activado por el calcio que desde el complejo receptor iónico interviene y actúa en todos los niveles de la cascada estimulando a los tres mensajeros.

## NEUROTOXICIDAD DEL GLUTAMATO

Desde 1992 en estudios experimentales se ha observado el incremento de la concentración extracelular de glutamato luego de isquemia (6), en 1996 se observa que el glutamato induce disrupción en la barrera hematoencefálica(9); el año 2000 Paolo Calabresi postula *la Neuroprotección se relaciona con la liberación de glutamato?*(13); También se observa que la injuria producida por glutamato aplicándolo en animales de laboratorio induce epileptogénesis. (14). El año 2002 Shingo Toyota demuestra una disminución de la perfusión cerebral cuando el glutamato se eleva (16).



## ANTAGONISTAS DEL GLUTAMATO(24)

Existen más de 300 antagonistas del glutamato, siendo las más importantes:

|              |  |
|--------------|--|
| Antagonistas | AMPA antagonists                             |
|              | GYKI 52466                                   |
|              | NBQX   |
|              | YM90K  |
|              | ZK-200775 (MPQX)                             |
|              | Kainate antagonist                           |
|              | SYM 2081                                     |
|              | NMDA antagonists                             |
|              | Competitive NMDA antagonists                 |
|              | CGS 19755 (Selfotel)                         |
|              | NMDA channel blockers                        |
|              | Aptiganel (Cerestat)                         |
|              | CP-101,606                                   |
|              | Dextrorphan                                  |
|              | Dextromethorphan                             |
|              | Magnesium                                    |
|              | Memantine                                    |
|              | MK-801                                       |
|              | NPS 1506                                     |
|              | Remacemide                                   |
|              | <u>Glycine</u> <sup>®</sup> site antagonists |
|              | ACEA 1021                                    |
|              | GV150526                                     |
|              | Polyamine site antagonists                   |
|              | Elprodil                                     |
|              | Ifenprodil                                   |

En los estudios se ha intentado actuar a dos niveles: Disminuir su liberación presináptica o bloquear su acción en los receptores postsinápticos:

- Inhibición de liberación presináptica. Estos compuestos actúan sobre canales de sodio y/o calcio. Su estudio se encuentra en fase III. Por ej.: Fenitoína, fosfenitoína, derivados de lamotrigina.(25, 26)
- Antagonistas de receptores de glutamato. Los receptores de glutamato se dividen en 2 grupos:
  - Receptores ionotrópicos (NMDA y AMPA) llamados así porque están acoplados a un canal iónico. Su activación produce cambios rápidos de la permeabilidad de la membrana postsináptica al sodio y calcio (resulta en aumento de sodio y calcio intracelular, depolarización).
  - Metabotrópicos. Acoplado a 2º mensajero, vía fosfatidil inositol (IP3). Efecto fisiológico desconocido.(25, 26)

Los estudios han apuntado básicamente a los receptores ionotrópicos.

Receptor Inonotrópico NMDA: La mayoría de los estudios con antagonistas no competitivos han debido discontinuarse por efectos colaterales: cataplexia, cambios conductuales (Fenciclidina, Dizolcipina). Sin embargo algunos aún están en evaluación, tal es el caso de CERESTAT (actualmente en estudio fase III) y SULFATO DE MAGNESIO que ha demostrado ser seguro, bien tolerado, ha demostrado mejoría clínica.

Se usa durante los primeros días del accidente vascular, en dosis de carga de 8 mmoles seguido de una infusión de 65 mmoles en 24 horas (27).

Receptor Inonotrópico AMPA: Este receptor tiene una distribución más amplia que el NMDA, claramente asociado con neurotransmisión excitatoria. Han sido estudiados sólo en modelos animales, aún no probados en humanos.

En resumen, estos compuestos han demostrado ser eficaces en lograr reducción del tamaño del infarto, sin embargo, con excepción del magnesio, sus efectos adversos han sido tan importantes, que se ha debido descontinuar su estudio. La gran gama de efectos colaterales refleja la importancia y lo complejo de la acción del glutamato en la fisiología cerebral.

### **BLOQUEADORES DE CANALES DE CALCIO (2, 5, 14)**

Son el 1° grupo estudiado. Se han descrito distintos tipos de canales:

- Canal de Calcio asociado al receptor NMDA. Es uno de los más estudiados. Además de ser activado por ligando (glutamato) es capaz de activarse frente a los cambios de voltaje (depolarización).
- Tipo N. Es un receptor presináptico, se activa ante los cambios de voltaje y es responsable de la liberación de neurotransmisores.
- Tipo L. Presente también en los vasos sanguíneos, sensibles a dihidropiridinas como el Nimodipino que actúa bloqueándolos. La utilidad del Nimodipino ha sido demostrada sólo en la prevención del vasoespasma asociado a hemorragia subaracnoidea aneurismática. Lamentablemente, en accidente vascular

isquémico no se han reproducido estos resultados: No disminuye la mortalidad, ni mejora el resultado funcional, comparado con placebo. Actualmente hay otros en estudio.

- Otros tipos. Tienen características diferentes de activación y desactivación, pueden ser similares al tipo L son insensibles a las dihidropiridinas.

### **ACTIVADORES DE RECEPTORES GABA Y ADENOSINA (5)**

GABA es el neurotransmisor inhibitorio más importante del cerebro, está presente en todas las neuronas. Actúa a través de un canal de cloro y su efecto es la hiperpolarización de la membrana. Algunos fármacos, como barbitúricos y benzodiazepínicos se unen a estos receptores, logrando el mismo efecto.

En teoría, si aumentamos el GABA en el espacio sináptico y se activan sus receptores postsinápticos, se lograría contrarrestar la acción despolarizante y excitatoria del glutamato. Vigabatrina, usado en epilepsia, inhibe a la transaminasa que cataboliza al GABA, aumentando la concentración de éste en el espacio sináptico. Su acción ha sido benéfica en estudios animales.

Uso combinado de antagonistas del glutamato y agonistas GABA aún no ha sido estudiado.

## **RECEPTORES DE ADENOSINA(5, 24)**

Los niveles de Adenosina están aumentados en el tejido isquémico. Este nucleósido estimula una serie de procesos que en su conjunto disminuyen el daño por isquemia: Aumenta el flujo sanguíneo, disminuye la liberación de neurotransmisores excitatorios, hiperpolariza la membrana celular, disminuye la producción de radicales libres. Actúa a través de un receptor acoplado a Proteína G.

## **ATRAPADORES DE RADICALES LIBERADOS (5, 24)**

Los radicales liberados del oxígeno (ion superóxido, peróxido de hidrógeno, radicales hidroxilo) se producen por la reducción enzimática incompleta del oxígeno y por la reintroducción de oxígeno en un ambiente con poder reductor elevado, en este caso el foco isquémico. Median el daño al tejido cerebral durante la etapa de reperfusión, sea ésta espontánea o inducida, a través de peroxidación lipídica de la membrana plasmática, oxidación de las proteínas y daño del DNA.

Superóxido dismutasa, catalasa, quelantes del fierro, vitamina E, Trilazad, intentan disminuir este proceso. Pueden tener un rol importante en los casos en que se usa terapia de reperfusión con rTPA.

## **OXIDO NITRICO (5, 24)**

Es el neurotransmisor cuyo rol en el tono vascular es conocido, aunque la totalidad de sus funciones en el tejido neuronal se desconoce. Aparentemente al producirse en

exceso contribuye a la neurotoxicidad, por generación de nuevos radicales libres. Tendría un rol importante en acción del glutamato en su receptor NMDA. 7-Nitroindazol Inhibe la formación neuronal de óxido nítrico. Estudios en etapa preclínica.

### **MODULADORES DEL PROCESO INFLAMATORIO(5, 24)**

Anticuerpos anti ICAM-1(intercellular adhesive molecule): La proteína ICAM-1 es una proteína de la superficie endotelial que facilita la adhesión de leucocitos, pueden producir daño por distintos mecanismos (liberación de proteasas, radicales del oxígeno, obstrucción mecánica del lumen vascular, etc.) Anticuerpos dirigidos contra estas proteínas ICAM-1 lograrían inhibir la migración de los leucocitos hacia el tejido isquémico. Estudio clínico en proceso

### **GANGLIOSIDO GM-1 (5, 24)**

No se conoce exactamente su mecanismo de acción. Probablemente interfiere con la traslocación de la Proteína Kinasa C. En forma experimental se ha visto que protege a células de cultivo del daño ocasionado por adición de glutamato. Dos ensayos controlados y randomizados de gangliósido GM1 en infarto cerebral agudo han sido negativos, sin embargo parece haber un subgrupo de pacientes jóvenes tratados, que se beneficiarían de la terapia

## **MAGNESIO**

Desde 1925 el Sulfato de Magnesio ha sido utilizado exitosamente en el tratamiento de la preeclampsia por su efecto vasodilatador. En el año 1991 en estudios realizados en animales de laboratorio se demuestra su efecto beneficioso para prevenir el vasoespasmio luego de hemorragia intracerebral (28). El año 1988 ya se describía su disminución en las células cerebrales lesionadas gravemente y que su administración profiláctica mejoraba notablemente el evento (29). También se describe alteraciones en el ritmo cardiaco en pacientes luego de injurias cerebrales severas lo cual estaría mediado por hipomagnesemia (30). En el estudio realizado por J. Andrew McKee toma mayor sustento científico el uso de sulfato para tratar la injuria cerebral. En el se demuestra que el Sulfato de Magnesio si pasa la barrera hematoencefálica incrementándose en el líquido céfalo raquídeo(31). En el estudio realizado por Jeffrey L se demuestra que el uso de Sulfato de Magnesio para el tratamiento agudo la injuria cerebral es favorable(32).

Veamos otras características importantes del magnesio (34)

Es el elemento número 12 de la tabla periódica, está muy cerca del Sodio y el Potasio y sobre el Calcio, esta estrecha relación también indica una dependencia constante del Mg con estos elementos en los seres vivos.

El pensamiento holístico nos indica que el Mg al ser centro de la molécula de Clorofila, es un procesador de luz solar y por ende de energía. En los estudios clínicos,

se observa que las personas con hipomagnesemia tienen tendencia a ser depresivas y con poca disposición vital.

El Magnesio se contrapone al Calcio por ser muy similar químicamente, pero sus funciones dentro del organismo parecen regidas por lo opuesto, el Calcio tiende a compactar, a solidificar; el Magnesio tiende a mantener el flujo, la baja densidad.

La bomba Sodio-Potasio, está estrechamente relacionada con la presencia del Magnesio en la pared celular, y principalmente, dentro de la célula.

En el cuerpo el 50% del Mg está en los huesos, y es una fuente endógena del elemento cuando el cuerpo la requiere. Estas reservas de Mg van disminuyendo con la edad.

El Mg es un cofactor de más de 325 sistemas enzimáticos, y es el segundo catión más abundante intracelular, luego del K. Es importante en numerosas funciones fisiológicas y homeostáticas. Está relacionado estrechamente con el ión  $\text{Ca}^{2+}$ , con la contracción muscular, la excitabilidad cardíaca, la actividad neuronal, el control vasomotor, el tono y relajamiento neuromuscular.

El Sulfato de Magnesio inyectable, posee la ventaja de estar acompañado del anión Sulfato, el cual es completamente compatible con los elementos del organismo y se excreta sin interferencias, sin afectar el equilibrio ácido-base, el metabolismo de los aminoácidos ni de los hidratos de carbono, esto incluso cuando se da en altas dosis.



El Magnesio está relacionado con el metabolismo de los hidratos de carbono, lípidos, ácidos nucleicos y proteínas, así como, con los procesos productores de energía (glicólisis, fosforilación oxidativa) y consumidores de energía como la contracción muscular y el transporte activo.

El Magnesio modula la liberación de acetilcolina y otros neurotransmisores, y actúa en la terminación nerviosa neuromuscular en la zona de los ganglios vegetativos, en las estructuras terminales parasimpáticas y en el sistema nervioso central.

Con respecto a la coagulación, el Magnesio modula la agregación plaquetaria y desacelera la fibrinólisis mejorando el flujo sanguíneo.

Debido a su efecto osmótico el Magnesio actúa como regulador de la inflamación.

El organismo de un adulto de 70 Kg de peso, contiene 1000 mmol (24 g) de Magnesio. 50-60% se encuentran fijos en los huesos, 1% fuera de la célula y el resto unos 10 gramos (39-49%), dentro de las células. Por ello el Magnesio es el segundo electrolito intracelular luego del Potasio.

El Magnesio aportado vía parenteral, se excreta al final por vía renal. La excreción del elemento se incrementa luego de la inyección i.v., y se reduce rápidamente, a las 4 horas luego de la infusión, quedando sólo la mitad del máximo alcanzado. Para mantener un suministro aumentado deben darse infusiones largas, o inyecciones repetitivas i.m.

Cuando hay deficiencia renal, se produce la eliminación del Magnesio, proporcional a la reducción de la eliminación de creatinina.

El análisis de la distribución volumétrica del Magnesio, señala que tiene una gran afinidad por la estructura interna de la célula (núcleo, microsomas y mitocondria), y en general, por órganos específicos (corazón, riñón y placenta). Y debido al gran volumen en que se distribuye es muy difícil alcanzar un nivel tóxico. La excreción límite se alcanza sólo cuando se duplica la dosis máxima, estos resultados nos llevan a definir un marco de seguridad terapéutica, incluso en niveles de suministro altos para casos agudos, como lo es en preeclampsia o eclampsia.

El efecto relajante sobre la musculatura capilar lisa, provoca un descenso de la tensión arterial media: efecto mucho más pronunciado en pacientes hipertensivos (32%), según reportes de Mroczek y Colaboradores, que en pacientes normotensivos (23%). Puede derivarse de esta información: la reducción efectiva de la demanda de antihipertensivos ajenos al cuerpo humano, tal como lo reportó Whang, reducirse la administración de diuréticos hipertensivos en un 50%, como demostró Dyckner y Colaboradores. Así como también, los efectos osmóticos por una parte y el incremento de la microcirculación renal por la otra.

Otra área de aplicación del Sulfato de Magnesio como terapia parenteral, es la relacionada a las arritmias cardíacas, salvo las relacionadas a las arritmias ventriculares; ejemplo: extrasístole, en cuyo caso la terapia previamente mencionada debe ser estudiada con mayor detenimiento. Dyckner, informó sobre una reducción

significativa de la actividad extrasistólica ventricular, mediante una infusión intravenosa constante de Sulfato de Magnesio.

Es recomendable la administración de Sulfato de Magnesio, como tratamiento profiláctico cuando se manifiesta una irritabilidad miocárdica ventricular. Esto es esencial para el tratamiento post-infarto. De esta manera Condorelli, logró disminuir mediante la aplicación parenteral del Sulfato de Magnesio las extrasístoles, luego de un infarto de 15% en casos colectivos no atendidos a un 10,6% y las taquicardias ventriculares de 7% a 1,3%. Morton, subrayó la importancia de la terapia paraenteral con Magnesio, al reportar una reducción importante de la extensión abarcada al momento de ocurrir un infarto cardíaco.

Wischnik y colaboradores, basado en experimentos con animales reportaron una correlación significativa entre una reserva coronaria positiva y la existencia del Magnesio.

Debido al efecto relajante del Sulfato de Mg inyectable sobre la musculatura vascular lisa, pueden establecerse una serie de aplicaciones en la medicina interna y general.

Al administrar Sulfato inyectable, puede producirse una sensación general de calor, acompañada por enrojecimiento cutáneo. Si se administra precipitadamente, pueden presentarse los siguientes síntomas pasajeros: vómito, dolor de cabeza, cosquilleo, sudor, a veces vértigo, resequedad bucal, náuseas, agitación o tembor.

Además la administración paraentérica del Sulfato de Magnesio inyectable, puede provocar bradicardia (trastornos del ritmo cardíaco), trastornos vasocomunicantes y vasodilataciones periféricas.

La reducción del suministro del medicamento o su suspensión conduce a una rápida desaparición de los efectos colaterales. En caso que se presenten síntomas de intoxicación debe administrarse como antídoto, 10 cc de solución intravenosa de Gluconato de calcio al 10 %.

Factores a tomar en cuenta en la administración de altas dosis de Sulfato de Magnesio:

- Deben estar presentes los reflejos patelares, en caso contrario deberá reducirse la dosis.
- La frecuencia respiratoria debe mantenerse en mínimo 16 resp/min.
- La eliminación de orina debe ser de 25 ml/h, en caso contrario existe peligro de acumulación.
- Es obligatorio mantener a la disposición el antídoto de Gluconato de calcio al 10%. Si ocurriera el caso de que se dieran condiciones de peligro vital inminente y si los factores arriba mencionados no logran resolver la emergencia, deberá recurrirse a las terapias prescritas por la medicina intensiva.

El efecto del Sulfato de Mg inyectable, disminuye drásticamente o se anula cuando se administra junto con sales calcáreas. Los relajantes musculares estilo curare, incrementan la actividad que tiene el magnesio sobre la terminación nerviosa motora.

Debe evitarse su administración junto con antibióticos del tipo aminoglucósidos.

El mecanismo exacto de acción de este ión no ha sido precisado, pero se especula que pudiera producir beneficios a través del intercambio del flujo sanguíneo cerebral, acción vasoconstrictora, antagonismo de la entrada de calcio intracelular e incluso, facilitar la recuperación de funciones celulares magnesio dependientes tales como los niveles de ATP y síntesis proteica.

Estudios anteriores han demostrado además una disminución significativa de las secuelas incapacitantes y una menor morbimortalidad con nulos efectos colaterales.

### **OBJETIVO DE LA NEUROPROTECCION (35)**

El objetivo principal de las investigaciones en esta área, es desarrollar fármacos que intervengan en la cascada isquémica y reduzcan la cantidad de tejido dañado. De este modo se podrá obtener un mejor resultado clínico, traducido no sólo en sobrevida, sino en calidad de vida de los pacientes que sufren eventos vasculares agudos.

Modelos experimentales y animales han demostrado ser útiles en modular la cascada isquémica, reduciendo el área final de necrosis. Esto sería más efectivo en casos de isquemia focal, donde la zona de penumbra es extensa.

Se ha aprendido en estos modelos que si se inicia la terapia al mismo tiempo que la isquemia, y antes de la reperusión, se obtiene un beneficio mayor y que la

disminución del área de necrosis se alcanza sólo cuando la terapia se inicia en menos de una hora del inicio de la isquemia. Este aspecto es muy importante, y debe considerarse al definir la ventana terapéutica para el inicio de la terapia de reperfusión.

### **TERAPIA MULTIMODAL (35)**

Ahora que se ha logrado reconocer distintas etapas en el proceso que conduce hasta la muerte de la célula neuronal, lo ideal sería influir en cada una de ellas. Resulta lógico pensar que si actuáramos en distintos niveles, sería más probable alcanzar efectos significativos y mensurables desde el punto de vista clínico. Así, las estrategias usadas hasta el momento, por ej. Reperusión (Trombolisis) intentan modificar la reducción flujo sanguíneo, las terapias de Neuroprotección intentan modificar la cascada a partir de la liberación de neurotransmisores excitatorios y en un futuro seguramente el objetivo será investigar opciones de intervención a nivel genético, por ej. inhibiendo la transcripción de genes que codifican citoquinas.

### **REPERFUSION DESPUES DE LA ISQUEMIA (5, 35)**

El principal factor que influye en el éxito de la terapia es el tiempo en que se obtiene la reperfusión cerebral. Cuando existe daño de la barrera hematoencefálica, la reperfusión puede ocasionar edema cerebral y hemorragia. No obstante, aún en ausencia de estas alteraciones, la reperfusión del tejido isquémico puede llevar a un aumento de la producción de radicales libres, expresión génica de citoquinas e inflamación que aumentan el daño celular.

El tratamiento farmacológico en los estadios iniciales, puede modificar el curso neurológico, sugiriendo que el daño puede ser modificado o evolucionar hacia procesos degenerativos secundarios.

### **III. DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO**

El presente estudio de tipo experimental a triple ciego se realizó en el periodo comprendido entre los meses de enero a junio del año 2006 en el bioterio particular de los investigadores, el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Nacional Daniel A. Carrión – Callao, fue el encargado del procesado y lectura de las láminas histopatológicas.

Se estudió un total de 30 Ratas albinas (*Rattus novegicus*) de 23 días de vida. Las candidatas fueron seleccionadas de acuerdo a los criterios de inclusión:

- Rata albina (*Rattus novegicus*)
- Sexo: Macho.
- 23 días de edad
- No haber participado en otro experimento previo
- Estar en aparente buen estado de salud.

Se excluyeron algunas por los siguientes criterios:

- Tener malformaciones externas
- Antecedente haber tenido alguna patología
- Tener peso menor o mayor al 10% que el promedio del grupo.

Los animales de experimentación fueron asignados aleatoriamente a uno de los tres grupos:

- Grupo A: No recibió ninguna dosis de Sulfato de Magnesio.
- Grupo B: Recibió dosis única de Sulfato de Magnesio.
- Grupo C: Recibió dosis repetidas de Sulfato de Magnesio por 5 días.

Los datos se extrajeron de la observación y valoración durante el experimento y la posterior lectura de las láminas por el histopatólogo; esta información fue transcrita a la ficha de recolección de datos realizada a cada animal de experimentación.

#### **IV. DEFINICIONES OPERACIONALES.**

##### **GRUPO A: CONTROL**

Se controló las funciones vitales y reflejos osteotendinosos, luego se procedió a aplicar anestésico local en la piel del cuello seguido a esto se realizó la disección por planos del cuello hasta identificar la arteria carótida primitiva izquierda, individualizándola de las estructuras adyacentes para poderla clipar. Luego de la individualización se procedió a clipar la arteria carótida primitiva, durante 10 minutos, luego de este tiempo se retiró el clip y se esperó 45 minutos antes de sacrificar al animal de experimentación y depositar el cerebro en formol al 20%. Se utilizó la hoja de recolección de datos para reportar todos los incidentes así como las funciones vitales de los animales de experimentación previo y luego de cada procedimiento.



## **GRUPO B: DOSIS ÚNICA DE SULFATO DE MAGNESIO**

Se controló las funciones vitales y reflejos osteotendinosos, se aplicó Sulfato de Magnesio en el músculo cuádriceps; se esperó 45 minutos y se procedió a aplicar anestésico local en la piel del cuello para luego proceder a la disección por planos hasta identificar la arteria carótida primitiva izquierda, individualizándola de las estructuras adyacentes para poder cliparla. Luego de la individualización se procedió a colocar un clip vascular en la carótida primitiva, durante 10 minutos, luego de este tiempo se retiró el clip y se esperó 45 minutos antes de sacrificar al animal de experimentación y depositar el cerebro en formol al 20%. Se utilizó la hoja de recolección de datos para reportar todos los incidentes así como las funciones vitales de los animales de experimentación previo y luego de cada procedimiento.

## **GRUPO C: DOSIS REPETIDAS DE SULFATO DE MAGNESIO**

Se controló las funciones vitales y reflejos osteotendinosos, se aplicó Sulfato de Magnesio en el músculo cuádriceps diariamente y en forma alternativa entre ambas extremidades durante 5 días; luego de la última dosis se esperó 45 minutos y se procedió a aplicar anestésico local en la piel del cuello para luego proceder a la disección por planos hasta identificar la arteria carótida primitiva del lado izquierdo, individualizándola de las estructuras adyacentes para poder cliparla. Luego de la individualización se procedió a colocar un clip vascular en la carótida primitiva durante 10 minutos, luego de este tiempo se retiró el clip y se esperó 45 minutos antes de sacrificar al animal de experimentación y depositar el cerebro en formol al 20%. Se utilizó la hoja de recolección de datos para reportar todos los incidentes así como las

funciones vitales de los animales de experimentación previo y luego de cada procedimiento

## **ANÁLISIS ANATOMOTOPATOLÓGICO**

Las muestras anatomopatológicas de los cerebros fueron obtenidas de los animales de laboratorio luego de ser sacrificados. Las muestras fueron procesadas en el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Nacional Daniel A. Carrión mediante el protocolo estándar utilizado por el servicio para procesar las piezas anatómicas y ser fijadas en laminillas para ser leídas por anatómo histopatólogo. El personal que procesó las muestras no tenía conocimiento de que había recibido cada grupo.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis estadístico se utilizó estadística descriptiva con frecuencias para variables cualitativas.

La significancia estadística fue preferida para valores de  $P < 0,05$ .

Se hizo uso de estadística descriptiva (medias).

Los cambios en edema cerebral, congestión vascular cerebral, neovascularización cerebral, cambios morfológicos cerebrales, migración celular e hiperemia fueron analizados por medio de la prueba de Mann Whitney y Kruskal Wallis.

El procesamiento de datos se realizó usando el software SPSS versión 12.

## **V. RESULTADOS**

### **POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Se estudiaron 30 ratas blancas (10 en el grupo control, 10 en el grupo de dosis única y 10 en el grupo de dosis repetidas de Sulfato de Magnesio); con edades de 23 días de vida en el grupo control y el grupo de dosis única. En el grupo de dosis repetidas la edad fue de 28 días.

Los 30 animales sometidos al estudio tuvieron función neurológica normal previa al estudio, evidenciado clínicamente. El tiempo de clipaje arterial fue de 10 minutos en todos los grupos. En el Grupo A (No recibió Sulfato de Magnesio) se observó hemiplejia contralateral inmediata al clipaje arterial así como alteración en la frecuencia ventilatoria que se tornó apneústica; luego del desclipaje se presentaron convulsiones tónico clónicas repetidas, muriendo dos de ellas antes del tiempo establecido de reperfusión para ser sacrificadas. Se debe destacar que ninguno de los 10 animales de experimentación presentó recuperación parcial ni total luego del desclipaje.

En el Grupo B (Dosis única de Sulfato de Magnesio), se observó hemiplejia contralateral inmediata al clipaje en los 10 animales de experimentación. Luego del desclipaje no se observó convulsiones y la hemiplejia revirtió parcialmente en 3 de los animales de experimentación. En este grupo no murió ningún animal de experimentación previo a ser sacrificadas.

En el Grupo C (Dosis repetidas de Sulfato de Magnesio), a diferencia de los dos grupos anteriores en éste se observó hemiparecia contralateral luego del clipaje arterial en 8 animales de laboratorio. Durante el clipaje 2 animales de experimentación fallecieron a los 7 y 8 minutos respectivamente, asfixiadas por compresión de la traquea con el clip vascular. Las 8 ratas albinas restantes recuperaron completamente la movilidad a los 20 minutos del desclipaje arterial.

### **RESULTADOS ANATOMO PATOLÓGICOS (Ver fotos en anexos)**

En el Grupo A, a la histopatología en los 10 animales de experimentación se encontró marcado edema cerebral en el hemisferio que sufrió la isquemia, no se reconocía el parenquima cerebral del lado isquémico, no se encontró neovascularización. No hubo diferencia entre los cerebros de los dos roedores que murieron antes del tiempo de reperusión. (ver tabla I) (Ver fotos en anexos)

En el Grupo B, a la histopatología se observó dos casos con edema cerebral y focos isquémicos, poca neovascularización y en el lado isquémico si se reconocían tejido cerebral. (ver tabla I) (Ver fotos en anexos)

En el Grupo C, se observó marcada congestión vascular periférica así como neovascularización. No existen diferencias significativas entre ambos hemisferios cerebrales, No se observó edema cerebral en ninguno de los casos. (ver tabla I) (Ver fotos en anexos)

En ninguno de los tres grupos se observó migración de células inflamatorias.

El análisis estadístico fue realizado por un estadístico de la Facultad de Estadística de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

**TABLA I**

**RESULTADOS HISTOPATOLOGICOS EN LOS TRES GRUPOS DE ESTUDIO**

| Parámetro                   | Grupo                 |                      |                             |
|-----------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|
|                             | A                     | B                    | C                           |
| <b>Edema cerebral</b>       | Todos los casos (++)  | 2 casos (+)          | Ninguno                     |
| <b>Congestión vascular</b>  | Todos los casos (+)   | Todos los casos (+)  | Todos los casos (++)        |
| <b>Neovascularización</b>   | Ningún caso           | 8 casos (+)          | Todos los casos (++)        |
| <b>Cambios Morfológicos</b> | Todos los casos (+++) | Ninguno              | Ninguno                     |
| <b>Migración celular</b>    | Ninguno               | Ninguno              | Ninguno                     |
| <b>Hiperemia</b>            | Todos los casos (+)   | Todos los casos (++) | 8 Casos (++)<br>2 casos (+) |

**TABLA II**

**COMPARACIÓN DEL EDEMA CEREBRAL EN LOS GRUPO DE ESTUDIO  
SEGÚN LA PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS**

| GRUPO | N  | Mediana |   | Chi cuadrado | gl | P      |
|-------|----|---------|---|--------------|----|--------|
| A     | 10 | ++      | 2 | 25           | 2  | 0.000* |
| B     | 10 | 0       | 0 |              |    |        |
| C     | 10 | 0       | 0 |              |    |        |

\*P<0.05 existe diferencias significativas

**TABLA III**

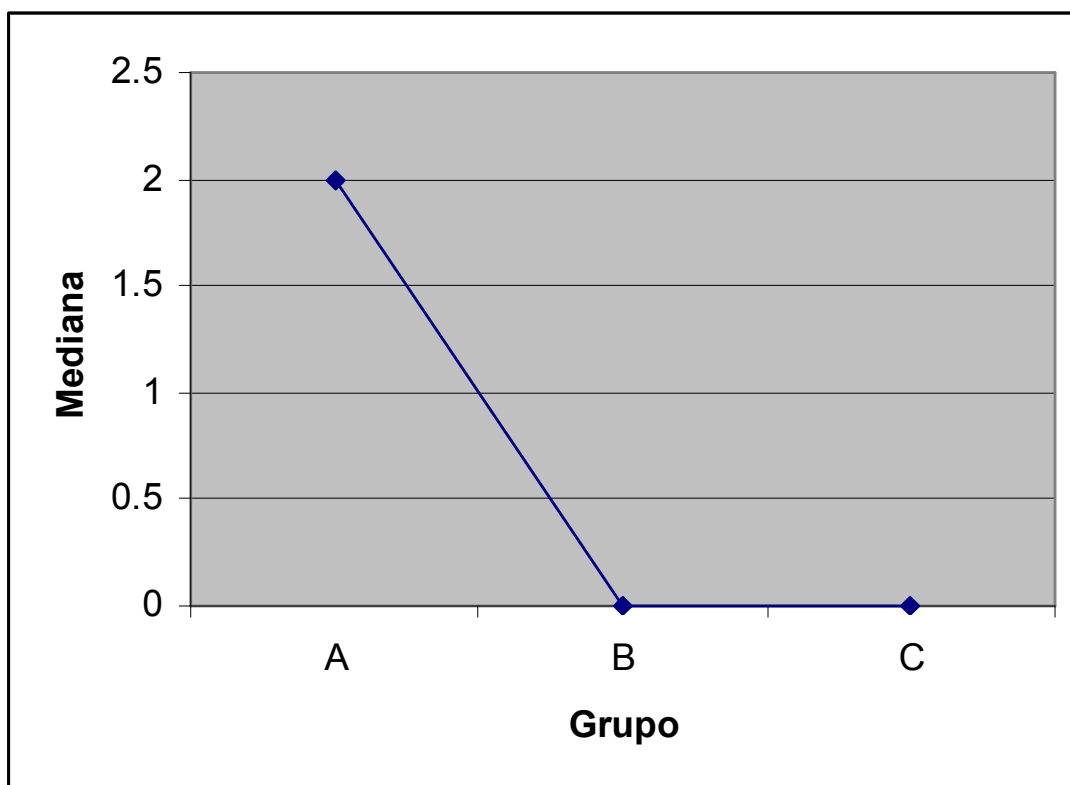
**COMPARACIÓN DEL EDEMA CEREBRAL POR PARES EN LOS GRUPO  
DE ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE MANN WHITNEY**

| GRUPO | Mediana |   | Mann Whitney | P     |
|-------|---------|---|--------------|-------|
| A     | ++      | 2 | 0.5          | 0.00* |
| B     | 0       | 0 |              |       |
| A     | ++      | 2 | 0.5          | 0.00* |
| C     | 0       | 0 |              |       |
| B     | 0       | 0 | 40.5         | 0.99  |
| C     | 0       | 0 |              |       |

\*P<0.05 existe diferencias significativas

### GRAFICO I

#### MEDIANA DEL PUNTAJE CUALITATIVO DEL EDEMA



**TABLA IV**  
**COMPARACIÓN DE CONGESTION VASCULAR EN LOS GRUPO DE**  
**ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS**

| <b>GRUPO</b> | <b>N</b> | <b>Mediana</b> |   | <b>Chi cuadrado</b> | <b>gl</b> | <b>P</b> |
|--------------|----------|----------------|---|---------------------|-----------|----------|
| <b>A</b>     | 10       | ++             | 2 | 25                  | 2         | 0.000*   |
| <b>B</b>     | 10       | +              | 1 |                     |           |          |
| <b>C</b>     | 10       | ++             | 2 |                     |           |          |

\*P<0.05 existe diferencias significativas

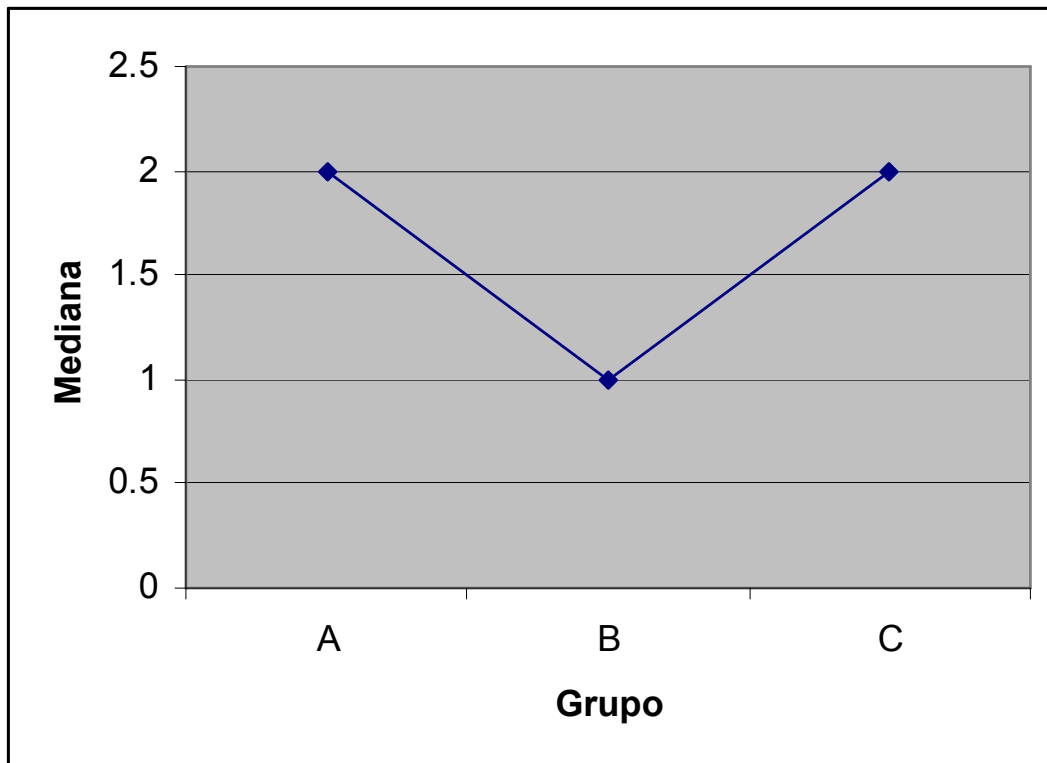
**TABLA V**  
**COMPARACIÓN DE CONGESTIÓN VASCULAR POR PARES EN LOS**  
**GRUPO DE ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE MANN WHITNEY**

| <b>Grupo</b> | <b>Mediana</b> |   | <b>Mann Whitney</b> | <b>P</b> |
|--------------|----------------|---|---------------------|----------|
| <b>A</b>     | ++             | 2 | 0.5                 | 0.00*    |
| <b>B</b>     | +              | 1 |                     |          |
| <b>A</b>     | ++             | 2 | 36                  | 0.99     |
| <b>C</b>     | ++             | 2 |                     |          |
| <b>B</b>     | +              | 1 | 0.5                 | 0.00*    |
| <b>C</b>     | ++             | 2 |                     |          |

\*P<0.05 existe diferencias significativas



**GRAFICO II**  
**MEDIANA DEL PUNTAJE CUALITATIVO DE LA CONGESTION**  
**VASCULAR**



**TABLA VI**

**COMPARACIÓN DE NEOVASCULARIZACION EN LOS GRUPO DE ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS**

| <b>GRUPO</b> | <b>N</b> | <b>Mediana</b> |   | <b>Chi cuadrado</b> | <b>gl</b> | <b>P</b> |
|--------------|----------|----------------|---|---------------------|-----------|----------|
| <b>A</b>     | 10       | 0              | 0 | 25                  | 2         | 0.000*   |
| <b>B</b>     | 10       | +              | 1 |                     |           |          |
| <b>C</b>     | 10       | ++             | 2 |                     |           |          |

\*P<0.05 existe diferencias significativas

**TABLA VII**

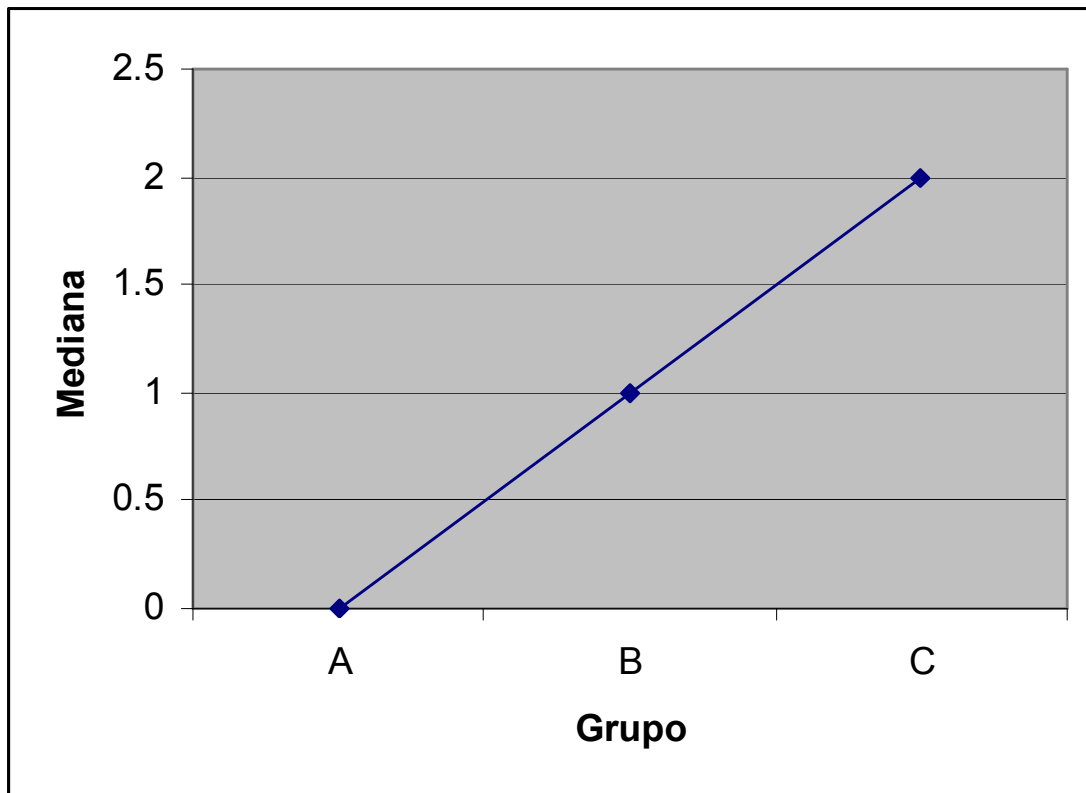
**COMPARACIÓN DE NEOVASCULARIZACION POR PARES EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE MANN WHITNEY**

| <b>Grupo</b> | <b>Mediana</b> |   | <b>Mann Whitney</b> | <b>P</b> |
|--------------|----------------|---|---------------------|----------|
| <b>A</b>     | 0              | 0 | 0.5                 | 0.00*    |
| <b>B</b>     | +              | 1 |                     |          |
| <b>A</b>     | 0              | 0 | 0.5                 | 0.00*    |
| <b>C</b>     | ++             | 2 |                     |          |
| <b>B</b>     | +              | 1 | 0.5                 | 0.00*    |
| <b>C</b>     | ++             | 2 |                     |          |

\*P<0.05 existe diferencias significativas

### GRAFICO III

#### MEDIANA DEL PUNTAJE CUALITATIVO DE NEOVASCULARIZACION



**TABLA VIII**

**COMPARACIÓN DE CAMBIOS MORFOLOGICOS EN LOS GRUPO DE ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS**

| <b>GRUPO</b> | <b>N</b> | <b>Mediana</b> |   | <b>Chi cuadrado</b> | <b>gl</b> | <b>P</b> |
|--------------|----------|----------------|---|---------------------|-----------|----------|
| <b>A</b>     | 10       | +              | 1 | 14.59               | 2         | 0.001*   |
| <b>B</b>     | 10       | 0              | 0 |                     |           |          |
| <b>C</b>     | 10       | 0              | 0 |                     |           |          |

\*P<0.05 existe diferencias significativas

**TABLA IX**

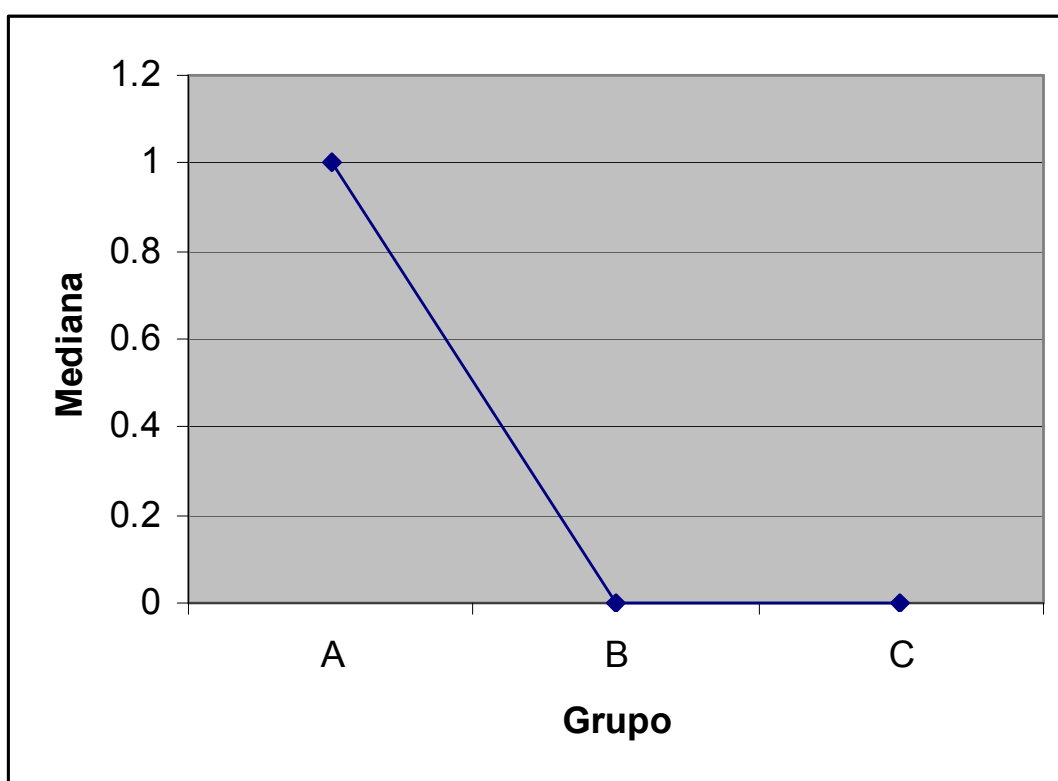
**COMPARACIÓN DE CAMBIOS MORFOLOGICOS POR PARES EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE MANN WHITNEY**

| <b>Grupo</b> | <b>Mediana</b> |   | <b>Mann Whitney</b> | <b>P</b> |
|--------------|----------------|---|---------------------|----------|
| <b>A</b>     | +              | 1 | 16                  | 0.03*    |
| <b>B</b>     | 0              | 0 |                     |          |
| <b>A</b>     | +              | 1 | 32                  | 0.03*    |
| <b>C</b>     | 0              | 0 |                     |          |
| <b>B</b>     | 0              | 0 | 31.5                | 0.43*    |
| <b>C</b>     | 0              | 0 |                     |          |

\*P<0.05 existe diferencias significativas

**GRAFICO IV**

**MEDIANA DEL PUNTAJE CUALITATIVO DE CAMBIOS MORFOLÓGICOS**



**TABLA X**

**COMPARACIÓN DE MIGRACIÓN CELULAR EN LOS GRUPO DE ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS**

| GRUPO | N  | Mediana |   | Chi cuadrado | gl | P    |
|-------|----|---------|---|--------------|----|------|
| A     | 10 | 0       | 0 | 1.88         | 2  | 0.38 |
| B     | 10 | 0       | 0 |              |    |      |
| C     | 10 | 0       | 0 |              |    |      |

**TABLA XI**

**COMPARACIÓN DE HIPEREMIA EN LOS GRUPO DE ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE KRUSKAL WALLIS**

| GRUPO | N  | Mediana |   | Chi cuadrado | gl | P      |
|-------|----|---------|---|--------------|----|--------|
| A     | 10 | +       | 1 | 24           | 2  | 0.000* |
| B     | 10 | ++      | 2 |              |    |        |
| C     | 10 | ++      | 2 |              |    |        |

\*P<0.05 existe diferencias significativas

**TABLA XII**

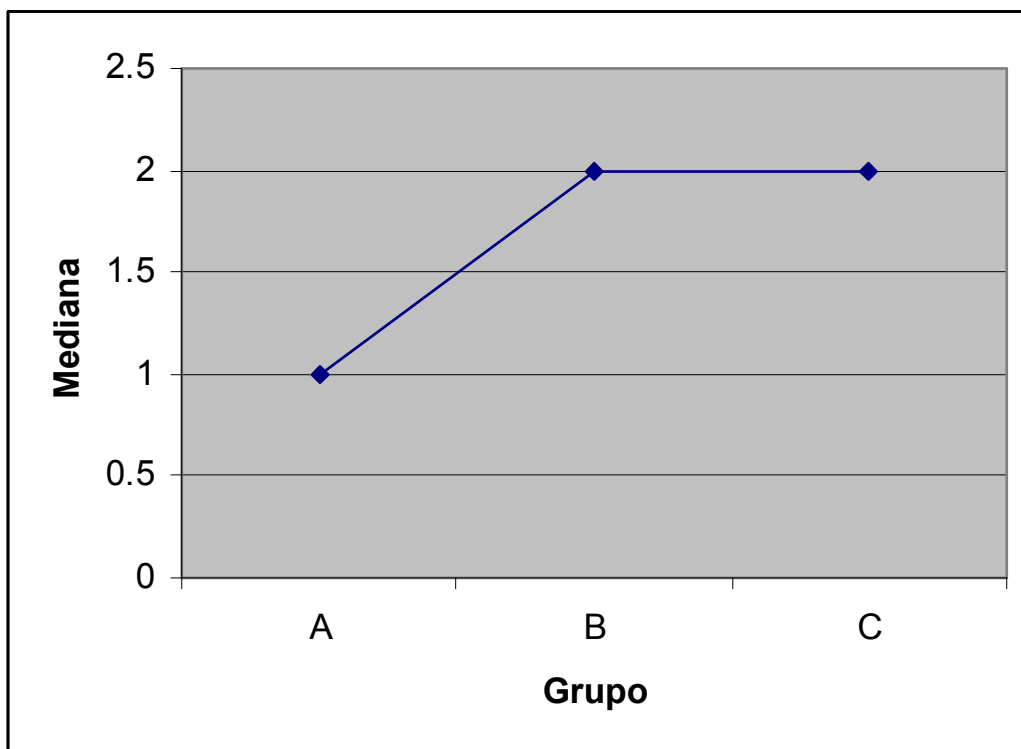
**COMPARACIÓN DE HIPEREMIA POR PARES EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO SEGÚN LA PRUEBA DE MANN WHITNEY**

| Grupo | Mediana |   | Mann Whitney | P     |
|-------|---------|---|--------------|-------|
| A     | +       | 1 | 0.5          | 0.00* |
| B     | ++      | 2 |              |       |
| A     | +       | 1 | 0.5          | 0.00* |
| C     | ++      | 2 |              |       |
| B     | ++      | 2 | 40.5         | 0.99  |
| C     | ++      | 2 |              |       |

\*P<0.05 existe diferencias significativas

### GRAFICO V

#### MEDIANA DEL PUNTAJE CUALITATIVO DE LA HIPEREMIA



## VI. DISCUSIÓN

La injuria cerebral induce varios grados de daño neurológico dependiendo de la intensidad y duración de la misma. En general se cree que se incrementa al aumentar la concentración del Calcio intracelular, estimulada por sustancias bioactivas y otras que puedan inducir injuria cerebral secundaria. Los factores incluidos en la injuria cerebral secundaria incluyen al stress oxidativo, cambios en el flujo sanguíneo, neurotransmisores, cambios iónicos, edema, y falla energética. (36).

El magnesio, es uno de los elementos traza esenciales, juega un rol importante en mantener la función celular y corporal normal. La hipomagnesia, o la ingesta deficiente de magnesio en la dieta, presenta un incremento del riesgo de isquemia. El daño cerebral ocurre por la disminución secundaria en la concentración de Magnesio en el cerebro y en los fluidos corporales(29). El Magnesio es también uno de los agentes terapéuticos usados en daño neuronal, tiene ventaja de su amplia disponibilidad, ser barata y tener pocos efectos secundarios.

En muchos estudios experimentales el tratamiento con magnesio mejora la función cerebral. En estudios en animales de experimentación sometidos a isquemia cerebral, el tratamiento con Magnesio reduce el volumen del infarto, inhibe la muerte neuronal y atenúa el déficit motor (36), lo que se ha objetivado en nuestro estudio.

Yang et al. reportan que el tratamiento postisquémico con Sulfato de Magnesio (90 mg/kg) resulta en una significativa reducción del volumen del infarto 61% a las 2 horas o de 48% a las 6 horas después de embolización de la arteria cerebral



media(37) . En modelos animales con injuria cerebral traumática, el tratamiento con Magnesio inhibe el edema y la muerte cerebral neuronal y atenúa el déficit motor y la disfunción cognitiva(38). Barriere et al. reportan que la administración de Cloruro de Magnesio (125 mmol/rata) reduce significativamente el daño inducido en el neocortex en modelo de injuria traumática en roedores (modelo fluido-percusión).

Los mecanismos del Sulfato de Magnesio en el daño cerebral son multidireccionales, tiene sus efectos bloqueando por mecanismo no competitivo al receptor N-metil-D-aspartato, inhibe excitación presináptica relacionada con neurotransmisores, potencia la adenosina presináptica, bloquea canales de calcio dependientes de voltaje, suprime la extensión de la depresión cortical y la despolarización anóxica, es potente antioxidante(39) y produce relajación del músculo liso. Recientemente se ha reportado que el Magnesio atenúa apoptosis inhibiendo la fragmentación del DNA y la expresión del gen p53 y modifica el balance proapoptótico y antiapoptótico bcl-2 (36)

En el escenario clínico, existen dos grandes estudios randomizados y controlados. Uno de ellos IMAGENES (40) fue un estudio internacional, multicéntrico, doble ciego, placebo-controlado en isquemia que reveló la eficacia del magnesio endovenoso. En este estudio participaron 2589 pacientes los que fueron randomizados, la mayor parte de estos pacientes recibieron como tratamiento Sulfato de Magnesio (16 mmol en bolo endovenosos seguido de infusión continua de 65 mmol dentro 24 horas) después de 3 horas (hasta 12 horas) de iniciado los síntomas, La mayor parte del resultado en este estudio fue desilusionante porque el resultado primario no mejoro con el magnesio.

Además la mortalidad fue significativamente alta en el grupo tratado con magnesio, y el resultado secundario no demuestra el efecto del tratamiento (41).

En el estudio piloto Field Administración of Stroke Therapy-Magnesium (FAST-MAG) (32) fueron enrolados 20 pacientes a quienes se administro Sulfato de Magnesio (10 mmol en bolo endovenoso y 64 mmol en infusión continua por 24 horas) comenzo con una media de 100 minutos de iniciado los síntomas (rango 24-703 minutos) el 70 % recibieron el Sulfato de Magnesio dentro de las 2 horas iniciado los síntomas. El intervalo para el arribo de los paramédicos para la administración del magnesio fue de 26 minutos (rango 15-64) vs la administración hospitalaria de 139 minutos (control histórico). El rango de arribo de los paramédicos llevando pacientes con isquemia al hospital fue mejorado en 20% de los casos, empeoraron en 5%, y no hubo modificación 75%. Hubo buenos resultados a los 3 meses de ocurrido evento isquémico en 60% de pacientes.

La razón de la discrepancia entre estos dos estudios no es todavía clara. Sin embargo la dosis optima para el tratamiento en humanos aún no esta definida (36).

En nuestro estudio, podemos ver claramente que el Sulfato de Magnesio si brinda Neuroprotección en los animales de laboratorio que lo recibieron, ya sea en dosis única o en dosis sucesivas durante 5 días previos a la isquemia cerebral por clipaje de arteria carótida primitiva.

El edema cerebral es un marcador de mal pronóstico en las lesiones cerebrales, ya que su presencia empeora la perfusión cerebral y nos estaría indicando que los

mecanismos de defensa cerebrales se encuentran alterados, en estudios previos se ha demostrado que el edema cerebral se encuentra íntimamente relacionado a presencia incrementada de glutamato. En nuestro estudio podemos apreciar la ausencia de edema cerebral en los grupos que recibieron Sulfato de Magnesio. Esto será beneficioso ya que nos protege de alteraciones de la perfusión cerebral con sus consecuencias subsiguientes. Al realizar las pruebas de significación estadística, podemos encontrar que si existe significancia estadística entre el grupo control con el grupo que recibió dosis única de Sulfato de Magnesio con un  $p < 0.05$ . Cuando se comparó el grupo control con el grupo de dosis repetidas de Sulfato de Magnesio, se encontró también que si existe diferencia estadísticamente significativa con un  $p < 0.05$ . La comparación entre el grupo de dosis única con el grupo que recibió dosis repetidas de Sulfato de Magnesio durante 5 días, no existe diferencia estadísticamente significativa. Estos datos anteriores nos estarían indicando que para el edema cerebral no sería necesario dar un “pre condicionamiento” con dosis sucesivas de Sulfato de Magnesio.

En estudios previos revisados no existe descripción sobre congestión vascular periférica, en nuestro estudio se observó presencia de congestión vascular periférica en los tres grupos, siendo mayor en el grupo que recibió dosis sucesivas de Sulfato de Magnesio. Como sabemos la congestión vascular periférica es la presencia de congestión venular, lo cual nos estaría sugiriendo que el Sulfato de Magnesio carece de acción sobre las vénulas. Esto debería ser ampliado en estudios posteriores, ya que las pruebas de significación estadística no dieron ningún valor que nos induzca a pensar en un efecto benéfico del Sulfato de Magnesio sobre este punto.

La neovascularización, es la presencia de nuevas formaciones vasculares en el hemisferio que sufrió la agresión, en nuestro estudio se observó una mayor neovascularización en el grupo con dosis repetidas de Sulfato de Magnesio, cuando se realizó la prueba estadística de Mann Whitney para ver la significancia estadística se obtuvo un valor de  $p < 0.05$  cuando se comparó los resultados del grupo control con el grupo de dosis única, también se obtuvo un valor de  $p < 0.05$  al compararse el grupo control con el grupo que recibió dosis repetidas de Sulfato de Magnesio; y lo más interesante es que también existe una significancia estadística entre el grupo de dosis única con el grupo que recibió dosis sucesivas, esto nos estaría demostrando que existe una mayor neovascularización si administramos dosis repetidas en varios días; esto es beneficioso para el cerebro que sufre una agresión ya que tendrá nuevas colaterales y de esta forma sería mucho menor el área infartada.

Los cambios morfológicos cerebrales que vienen a ser la deformación del parénquima cerebral por el edema y muerte celular, son alteraciones de mal pronóstico cuando se presentan ya que las células cerebrales no se regeneran. En nuestro estudio se encontró significancia estadística con un valor de  $p < 0.05$  entre el grupo control y el grupo que recibió dosis única de Sulfato de Magnesio; esta diferencia estadística también se encontró entre el grupo control y el grupo con dosis repetidas. Al comparar los dos grupos que recibieron Sulfato de Magnesio no se encontró diferencia estadísticamente significativa. Estas observaciones nos indican que si existe efecto beneficioso del Sulfato de Magnesio como protector cerebral ya sea en dosis única o dosis repetidas.

La migración celular como presencia de células inflamatorias en el parénquima cerebral no se encontró en ninguno de los casos, posiblemente por el poco tiempo de reperfusión cerebral.

La congestión vascular de tipo arteriolar denominada hiperemia, se presentó en los grupos que recibieron Sulfato de Magnesio que al ser comparada con el grupo control se encontró significancia estadística con un valor de  $p < 0.05$  en ambos grupos; al compararse entre si los dos grupos que recibieron Sulfato de Magnesio no se encontró significancia estadística. La hiperemia sería un efecto beneficioso para el cerebro que ha sufrido un accidente vascular, ya que es la presencia de glóbulos rojos en las arteriolas y en las colaterales que circundan el área dañada (zona de penumbra).

El presente estudio fue realizado en animales de laboratorio que representan una especie genética diferente al ser humano con diferencias evolutivas lo que condicionaría una diferencia entre la circulación arterial cerebral con mayor cantidad de comunicantes y mayor facilidad para formar neovascularización ante un estímulo, por lo que se sugiere que el presente estudio debe ser ampliado a otros grupos poblacionales con mayor semejanza al humano para poder ser utilizado el Sulfato de Magnesio con la misma confianza de poder repetir los resultados observados en el presente estudio.

## VII. CONCLUSIONES

- Si existe diferencia estadísticamente significativa del Sulfato de Magnesio como neuroprotector en dosis única o en dosis repetidas previos al evento isquémico cerebral.
- El Sulfato de Magnesio nos brinda protección cerebral al ser administrado como dosis única 45 minutos previos al evento isquémico cerebral.
- El Sulfato de Magnesio nos brinda una mejor protección cerebral cuando se administra en dosis repetidas durante 5 días previos al evento isquémico.
- El Sulfato de Magnesio administrado previamente nos brinda un buen margen protector cerebral permitiendo una recuperación casi total de la signología clínica como se observó en el presente estudio.
- No se evidenciaron alteraciones de tipo tóxico en los animales de experimentación a la dosis que se administró.
- Por su costo económico y su fácil acceso, el Sulfato de Magnesio se impone como neuroprotector frente a otros fármacos de laboratorio como neuroprotector.
- El estudio debería ser ampliado en otros tipos poblacionales para determinar su efectividad ante las diferencias genéticas y evolutivas.

## VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Patología Estructural y Funcional, Robbins et al; Editorial Interamericana – McGRAW – HILL 1995
2. Tibor Kristián and Bo K. Siesjö; Calcium in Ischemic Cell Death; *Stroke*, Mar 1998; 29: 705 - 718.
3. Clemens Sommer and Marika Kiessling; Hippocampus: GluR2 (GluR-B) Reduction Does Not Predict Neuronal Death Expression of GluR1, GluR2, and AMPA Receptor Binding Protein in the Gerbil Ischemia Ischemia and Ischemic Tolerance Induction Differentially Regulate Protein Expression of GluR1, GluR2, and AMPA Receptor Binding Protein in the Gerbil Hippocampus: GluR2 (GluR-B) Reduction Does Not Predict Neuronal Death; *Stroke*, 2002;33;1093-1100
4. Anestesia y Neurocirugía; James E. Cottrell, David S. Smith; Editorial El Sevier 2003.
5. Neuroanestesia y Cuidados NeuroIntensivos; George E. Cold , Bent L. Dahl; Editorial Masson 2003.
6. Y. Ueda, MD; T.P. Obrenovitch, PhD; S.Y. Lok, BSc; G.S. Sarna, PhD; and L. Symon, TD, FRCS; Changes in Extracellular Glutamate Concentration Produced in the Rat Striatum by Repeated Ischemia; *Stroke* 1992;23;1125-1130.
7. M.J. Leach, PhD; J.H. Swan, PhD; D. Eisenthal, BSc; M. Dopson, LIBiol; M. Nobbs, PhD; BW619C89, a Glutamate Release Inhibitor, Protects Against Focal Cerebral Ischemic Damage; *Stroke* 1993;24;1063-1067
8. James Grotta, MD; Wayne Clark, MD; Bruce Coull, MD; L. Creed Pettigrew, MD; Bruce Mackay, MD; Larry B. Goldstein, MD; Irene Meissner, MD; Deborah Murphy, MA Linda LaRue, PhD; Safety and Tolerability of the Glutamate Antagonist CGS 19755 (Selfotel) in Patients With Acute Ischemic Stroke; *Stroke*. 1995;26:602-605
9. William G. Mayhan, PhD Sean P. Didion, MA; Glutamate-Induced Disruption of the Blood-Brain Barrier in Rats; *Stroke*. 1996;27:965-970
10. José Castillo, MD; Antoni Dávalos, MD; Javier Naveiro, MD Manuel Noya, MD; Neuroexcitatory Amino Acids and Their Relation to Infarct Size and Neurological Deficit in Ischemic Stroke; *Stroke*. 1996;27:1060-1065.
11. Antoni Dávalos, MD; José Castillo, MD; Joaquín Serena, MD Manuel Noya, MD; Duration of Glutamate Release After Acute Ischemic Stroke; *Stroke*. 1997;28:708-710
12. Yukio Seki, MD; Paul J. Feustel, PhD; Richard W. Keller, Jr, PhD; Bruce I. Tranmer, MD; Harold K. Kimelberg, PhD; Inhibition of Ischemia-Induced Glutamate Release in Rat Striatum by Dihydrokinate and an Anion Channel Blocker; *Stroke*. 1999;30:433-440.

13. Paolo Calabresi, MD; Barbara Picconi, PhD; Emilia Saulle, MD; Diego Centonze, MD; Atticus H. Hainsworth, PhD; Giorgio Bernardi, MD Is Pharmacological Neuroprotection Dependent on Reduced Glutamate Release?; *Stroke*. 2000;31:766-773.
14. David A. Sun, BSE; Sompong Sombati, PhD; Robert J. DeLorenzo, MD, PhD, MPH; Glutamate Injury–Induced Epileptogenesis in Hippocampal Neurons An In Vitro Model of Stroke-Induced “Epilepsy”; *Stroke*. 2001;32:2344-2350.
15. Javier De Cristóbal, BSc; Antonio Cárdenas, PhD; Ignacio Lizasoain, MD, PhD; Juan Carlos Leza, MD, PhD; Paz Fernández-Tomé, PhD; Pedro Lorenzo, MD, PhD; María Ángeles Moro, PhD; Inhibition of Glutamate Release via Recovery of ATP Levels Accounts for a Neuroprotective Effect of Aspirin in Rat Cortical Neurons Exposed to Oxygen-Glucose Deprivation; *Stroke*. 2002;33:261-267.
16. Shingo Toyota, MD; Rudolf Graf, PhD; Mario Valentino, PhD; Toshiki Yoshimine, MD; Wolf-Dieter Heiss, MD; Malignant Infarction in Cats After Prolonged Middle Cerebral Artery Occlusion Glutamate Elevation Related to Decrease of Cerebral Perfusion Pressure; *Stroke*. 2002; 33:1383-1391
17. Glutamate receptors: Structures and functions. *University of Bristol Centre for Synaptic Plasticity*. [Free text](#)
18. The role of glutamate in central nervous system health and disease — A review. *Vet J*. 2005 Dec 20; [Epub ahead of print] [Abstract](#)
19. N-glycosylation site tagging suggests a three transmembrane domain topology for the glutamate receptor GluR1. *Hollmann et al., Neuron 13(6):1331* [Abstract](#)
20. Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity. *Trends Neurosci*. 2002 Nov; 25(11): 578-88. [Abstract](#)
21. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev*. 1999 Mar;51(1):7-61. [Free text](#)
22. Flip and flop: a cell-specific functional switch in glutamate-operated channels of the CNS. *Sommer et al., Science 1990. Sep 28;249(4976):1580-5* [Abstract](#)
23. J. Horn, MD; M. Limburg, MD, PhD; Calcium Antagonists for Ischemic Stroke A Systematic Review; *Stroke* 2001;32;570-576
24. Miller Anesthesia, Ronald D. Millar et all; Editorial El Sevier 2005.
25. Andrei B. Petrenko, MD, Tomohiro Yamakura, MD, PhD, Hiroshi Baba, MD, PhD, and Koki Shimoji, MD, PhD, FRCA; The Role of N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Receptors in Pain: A Review; *Anesth Analg* 2003;97:1108 –16



26. Colin J. L. McCartney, FRCA\*, Avinash Sinha, FRCA\*, and Joel Katz, PhD†‡§: A Qualitative Systematic Review of the Role of N-Methyl-Daspartate Receptor Antagonists in Preventive Analgesia; *Anesth Analg* 2004;98:1385–400.
27. Keith W. Muir, MD, MRCP; Kennedy R. Lees, MD, FRCP; Dose Optimization of Intravenous Magnesium Sulfate After Acute Stroke; *Stroke*. 1998;29:918-923.
28. Zvi Ram, MD; Menachem Sadeh, MD; Itzhack Shacked, MD; Abraham Sahar, MD; and Moshe Hadani, MD; Magnesium Sulfate Reverses Experimental Delayed Cerebral Vasospasm Alter Subarachnoid Hemorrhage in Rats; *Stroke* 1991;22:922-927
29. Robert Vink\$J, Tracy K. McIntosh\$, Paul DemedlukS, Michael W. Weinerq, and Alan I. Faden\$; Decline in Intracellular Free Mg<sup>2+</sup> Is Associated with Irreversible Tissue Injury after Brain Trauma\*; THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY Vol. 263, No. 2, Issue of January 15, pp., 757-761,1988.
30. Walter M. van den Bergh, MD; Ale Algra, MD, FAHA; Gabriël J.E. Rinkel, MD, FAHA; Electrocardiographic Abnormalities and Serum Magnesium in Patients With Subarachnoid Hemorrhage; *Stroke* 2004;35:644-648.
31. J. Andrew McKee, BSE; Randall P. Brewer, MD; Gary E. Macy, RN, MSN, CCNP; Barbara Phillips-Bute, PhD; Kurt A. Campbell, BS; Cecil O. Borel, MD; James D. Reynolds, PhD; David S. Warner, MD; Analysis of the brain bioavailability of eripherally administered magnesium sulfate: A study in humans with acute brain injury undergoing prolonged induced hypermagnesemia\*; *Crit Care Med* 2005 33:661–666
32. Jeffrey L. Saver, MD; Chelsea Kidwell, MD; Marc Eckstein, MD; Sidney Starkman, MD; for the FAST-MAG Pilot Trial Investigators; Prehospital Neuroprotective Therapy for Acute Stroke Results of the Field Administration of Stroke Therapy–Magnesium (FAST–MAG) Pilot Trial; *Stroke*. 2004 35:e106-e108.
33. Jaideep S. Bains, PhD; Matthew J. Follwell, BSc; Kevin J. Latchford, BSc; James W. Anderson, PhD; Alastair V. Ferguson, PhD; Slowly Inactivating Potassium Conductance (ID) A Potential Target for Stroke Therapy; *Stroke*. 2001;32:2624-2634.
34. Keith W. Muir, MRCP Kennedy R. Lees, BSc, MD, FRCP; A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Pilot Trial of Intravenous Magnesium Sulfate in Acute Stroke; *Stroke*. 1995;26:1183-1188.
35. Marc Fisher, MD; for the Stroke Therapy Academic Industry Roundtable; Recommendations for Advancing Development of Acute Stroke Therapies Stroke Therapy Academic Industry Roundtable 3; *Stroke*. 2003;34:1539-1546.
36. Kenji Dohi , Hirokazu Ohtaki , Seiji Shioda, et al : Magnesium sulfate therapy in patients with acude neuronal damage : The problem of intravenous administration . *Critical Care Medicine* 2005 ;33 , 3 Editorials

37. Yang Y , li Q , Ahmad F, et al : Survival and histological evaluation of therapeutic window of post-ischemia treatment with magnesium sulfate in embolic stroke model of rat . *Neurosci Lett* 2000 ; 285 : 119-122
38. Bareyre FM , saatman KE , Raghupathi R , et al : Postinjury treatment with magnesium chloride attenuates cortical damage after traumatic brain injury in rats . *J Neurotrauma* 2000 ; 17 : 1029-1039
39. Ustun ME , Duman A , Ogun CO , et al : Effects of nimodipine and magnesium sulfate on endogenous antioxidant levels in brain tissue after experimental head trauma . *J Neurosurg Anesthesiol* 2001 ; 13 : 227-232.
40. Muir KW , Lees KR , Ford I , et al : Intravenous Magnesium Efficacy in Stroke ( IMAGENES ) study investigators . *Lancet* 2004 ; 363 : 439-445
41. Scott S , Bruce O , et al : Intravenous magnesium sulphate does not improve survival or disability outcomes in people with stroke . *Healthcare* 2004 ; 8 : 227-229

## IX. ANEXOS

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS (Formato 1)

Rata N° \_\_\_\_\_  
Descripción externa \_\_\_\_\_  
Peso: \_\_\_\_\_  
Longitud: \_\_\_\_\_  
Frecuencia cardiaca: \_\_\_\_\_  
Frecuencia respiratoria: \_\_\_\_\_  
Reflejos a estímulos: \_\_\_\_\_

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS (Formato 2)

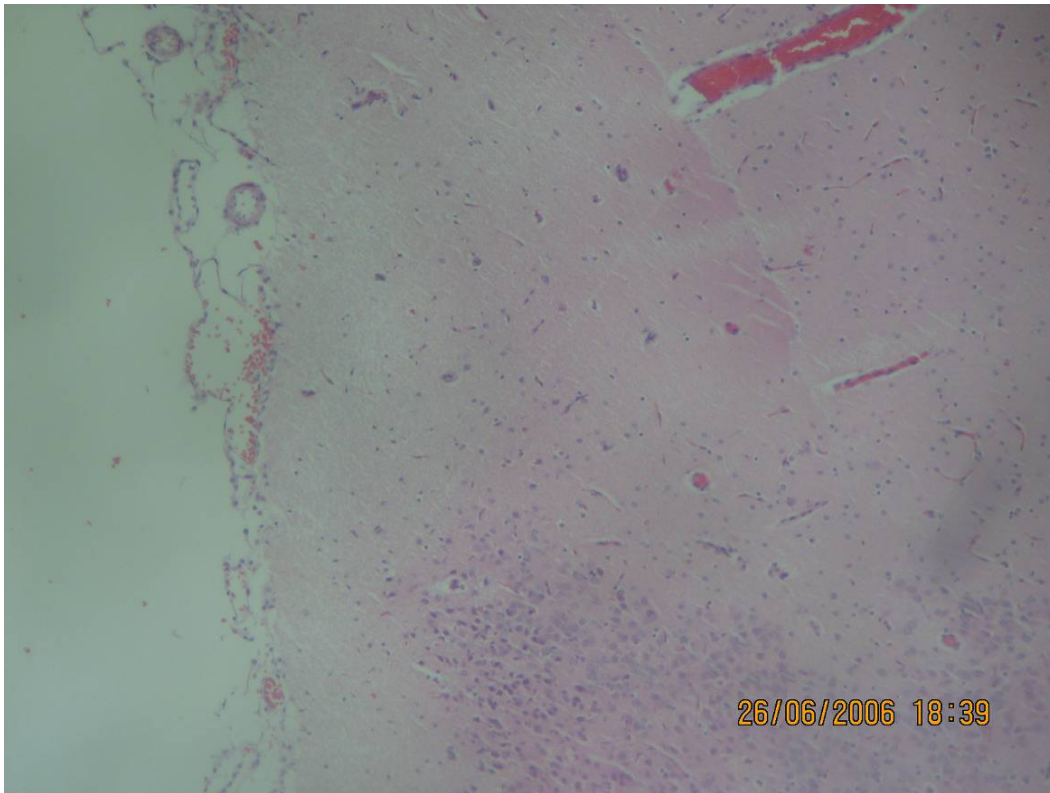
Jeringa con etiqueta: A      B      C  
Dosis aplicada:  
Frecuencia cardiaca      5' \_\_\_\_ 10' \_\_\_\_ 15' \_\_\_\_ 30' \_\_\_\_ 45' \_\_\_\_  
Frecuencia respiratoria      5' \_\_\_\_ 10' \_\_\_\_ 15' \_\_\_\_ 30' \_\_\_\_ 45' \_\_\_\_  
Reflejos osteotendinosos      5' \_\_\_\_ 10' \_\_\_\_ 15' \_\_\_\_ 30' \_\_\_\_ 45' \_\_\_\_  
Observación de efectos secundarios: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS (Formato 3)

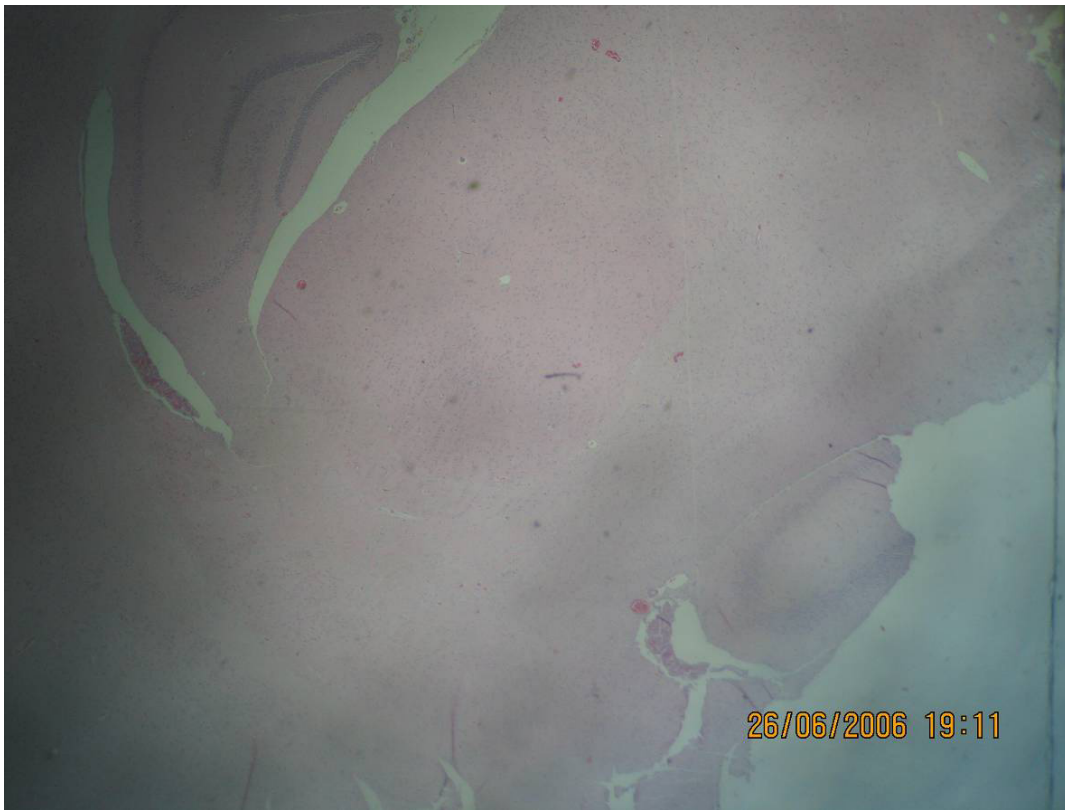
|   |         |           |
|---|---------|-----------|
| Uso de anestésico local previo a la disección       | Si      | No        |
| Accidentes durante la administración del anestésico | Si      | No        |
| Accidentes durante la disección                     | Si      | No        |
| Arteria clipada                                     | Derecha | Izquierda |
| Tiempo de clipaje                                   | _____   |           |
| Observaciones post clipaje:                         | _____   |           |
| Observaciones post desclipaje                       | _____   |           |
| Tiempo de reperusión                                | _____   |           |

**FICHA DE RECOLECCION DE DATOS (Formato 4)**

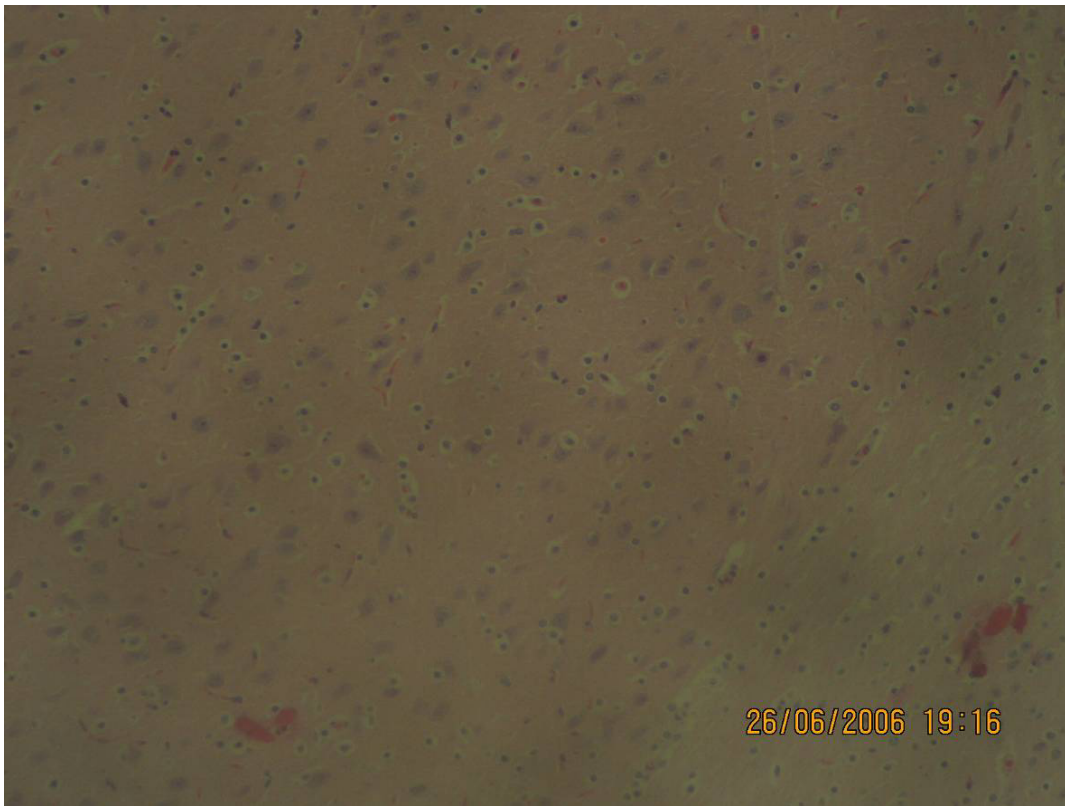
| <b>Parámetro</b>            | <b>Grupo</b> |          |          |
|-----------------------------|--------------|----------|----------|
|                             | <b>A</b>     | <b>B</b> | <b>C</b> |
| <b>Edema cerebral</b>       |              |          |          |
| <b>Congestion vascular</b>  |              |          |          |
| <b>Neovascularización</b>   |              |          |          |
| <b>Cambios Morfológicos</b> |              |          |          |
| <b>Migración celular</b>    |              |          |          |
| <b>Hiperemia</b>            |              |          |          |



GRUPO I: Edema marcado con cambios isquémicos leves. Congestión venosa moderada. Desprendimiento de la meninge



**GRUPO I: Asimetría hemisférica por edema y congestión venosa**

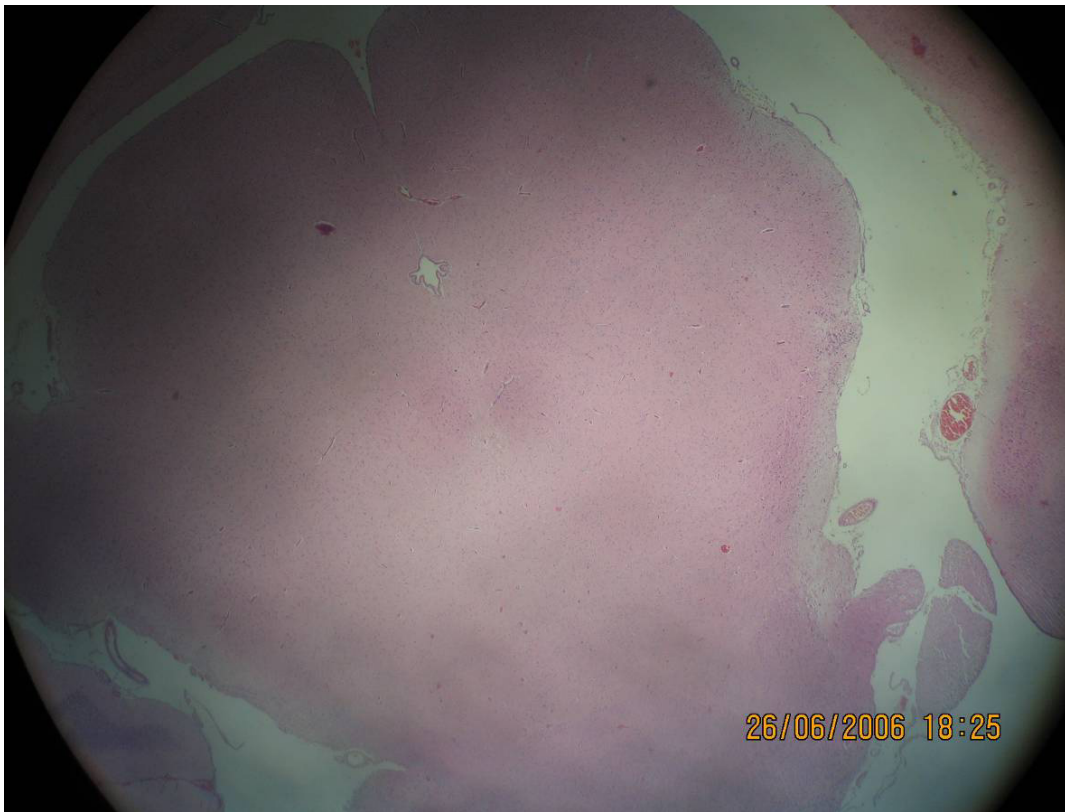


**GRUPO I: Parénquima cortical tumefacto. Migración leucocitaria discreta(\*).**

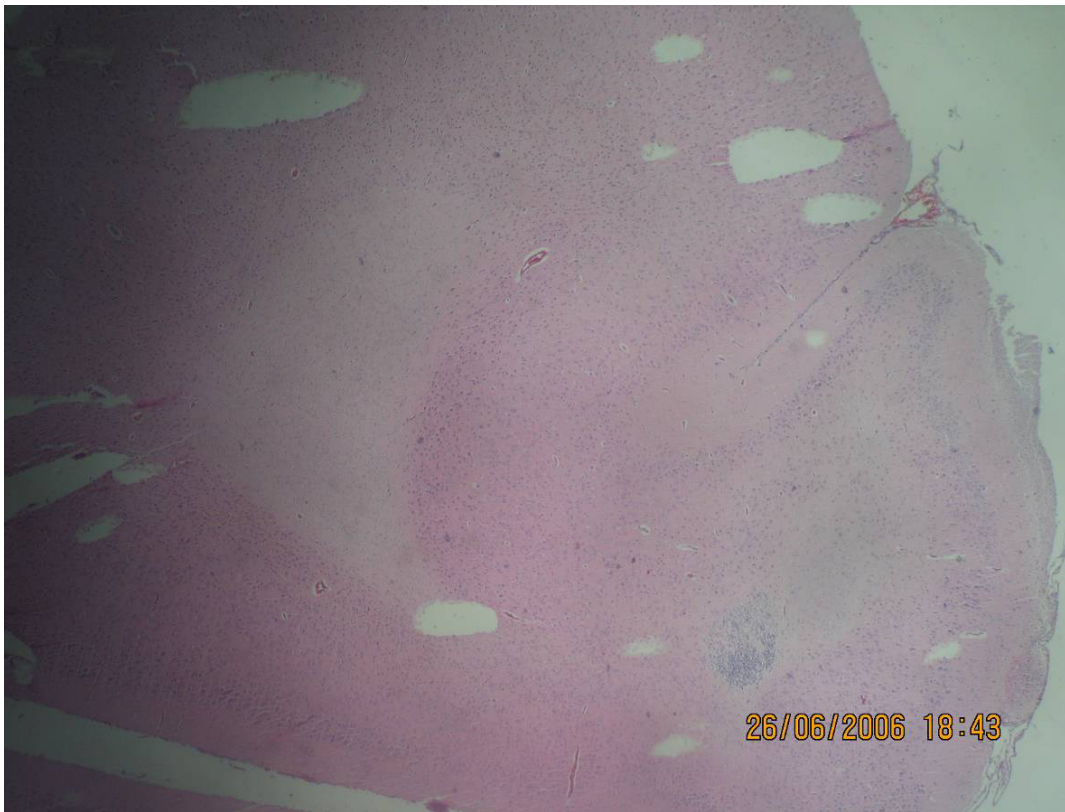


**GRUPO I: Edema cerebral y subaracnoideo. Congestión venosa Núcleos neuronales hipocromáticos.**

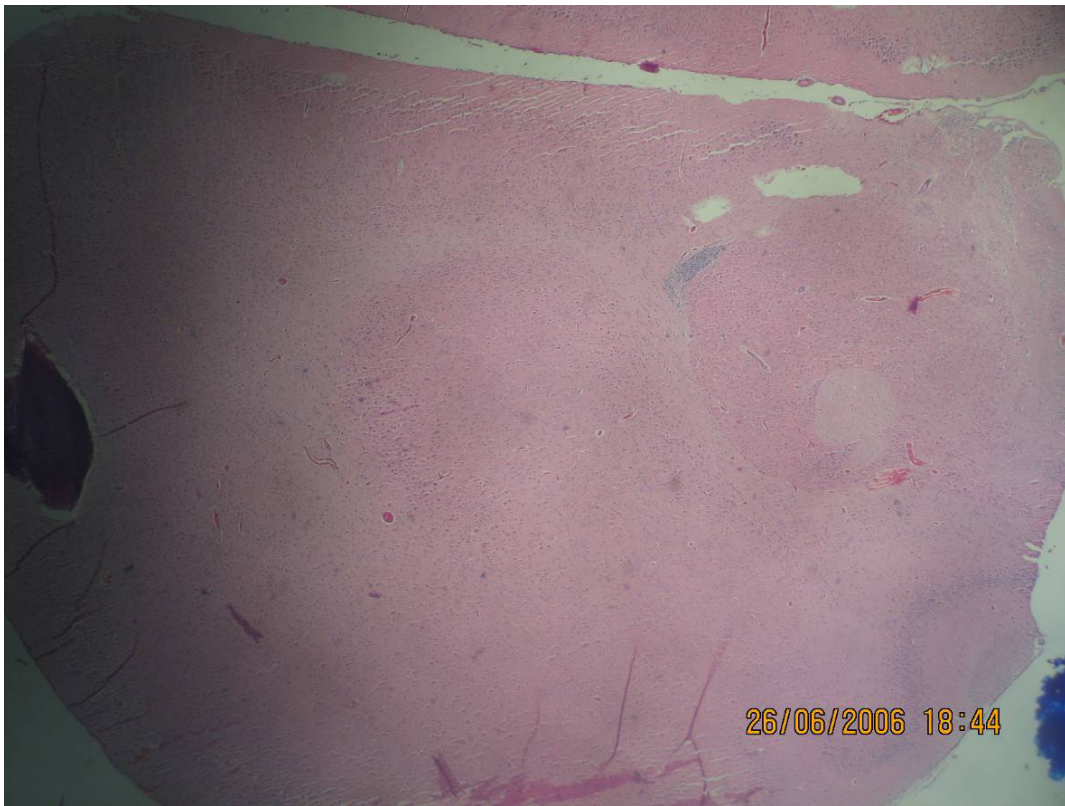




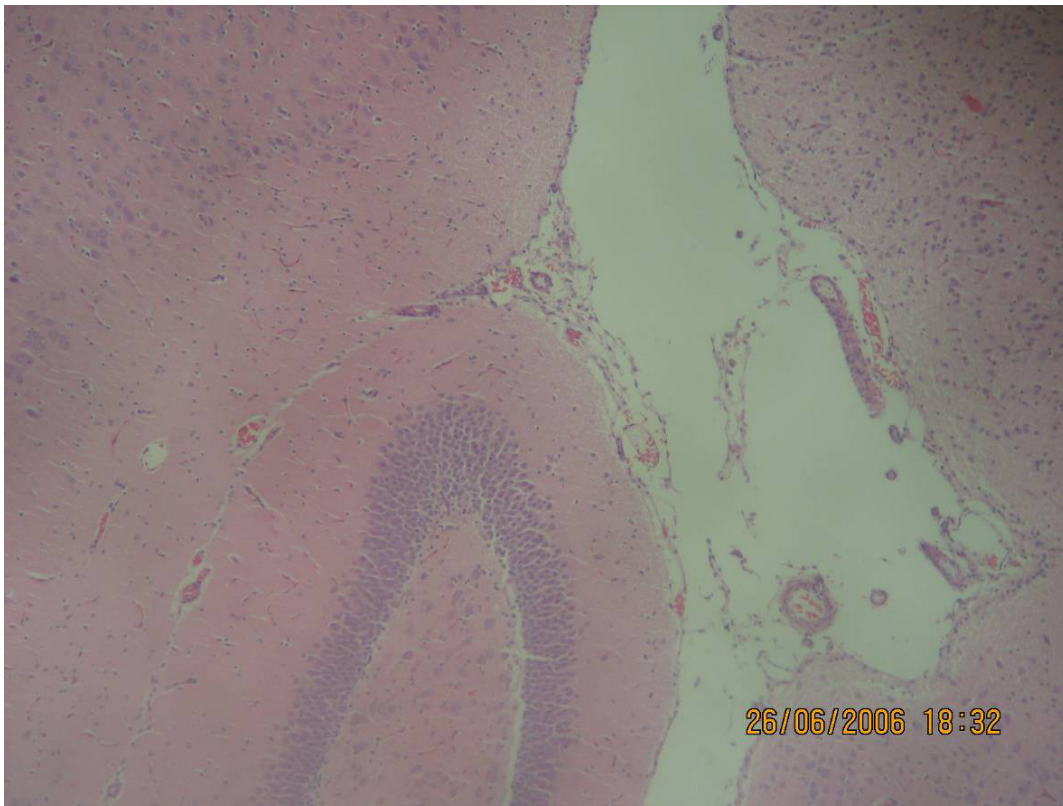
Grupo II: Discreta asimetría medular, algunas arteriolas hiperémicas



**Grupo II: H. Izq. Edematizado. H.Derecho con arteriolas hiperémicas y parénquima casi conservado**



**GRUPO II: Hemisferio Derecho conservado, neocapilarización cortical y en ganglios basales. Hiperemia arteriolar (\*)**

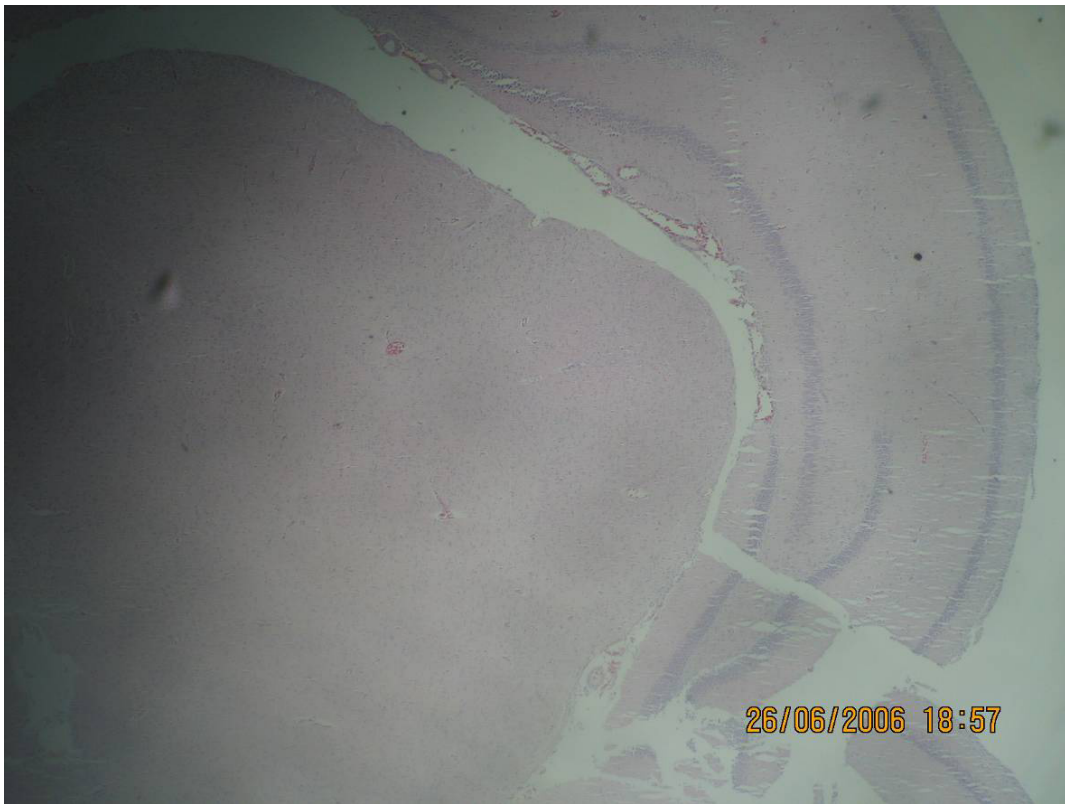


**GRUPO II: Hiperemia marcada, congestión venosa. Parénquima con sustancia gris y blanca bien definidas y conservadas**

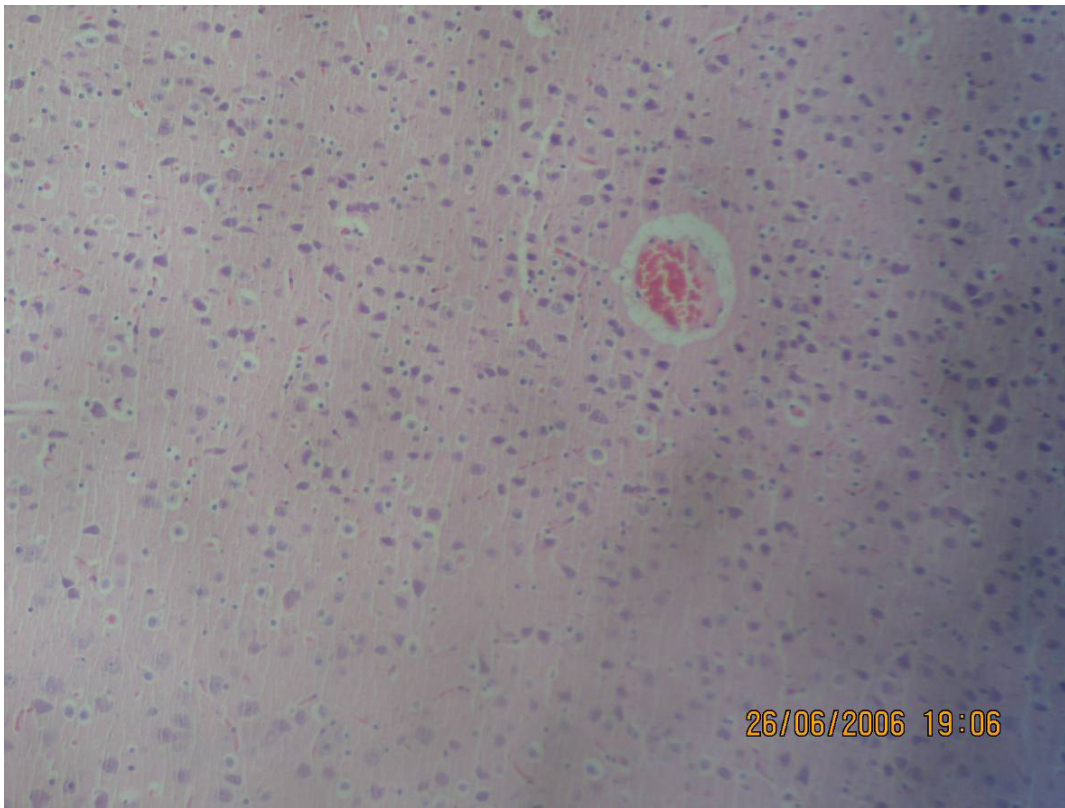


**GRUPO II: Marcada hiperemia y dilatación arteriolar Cerebral derecha.  
Ventrículo lateral con vasos hiperémicos**

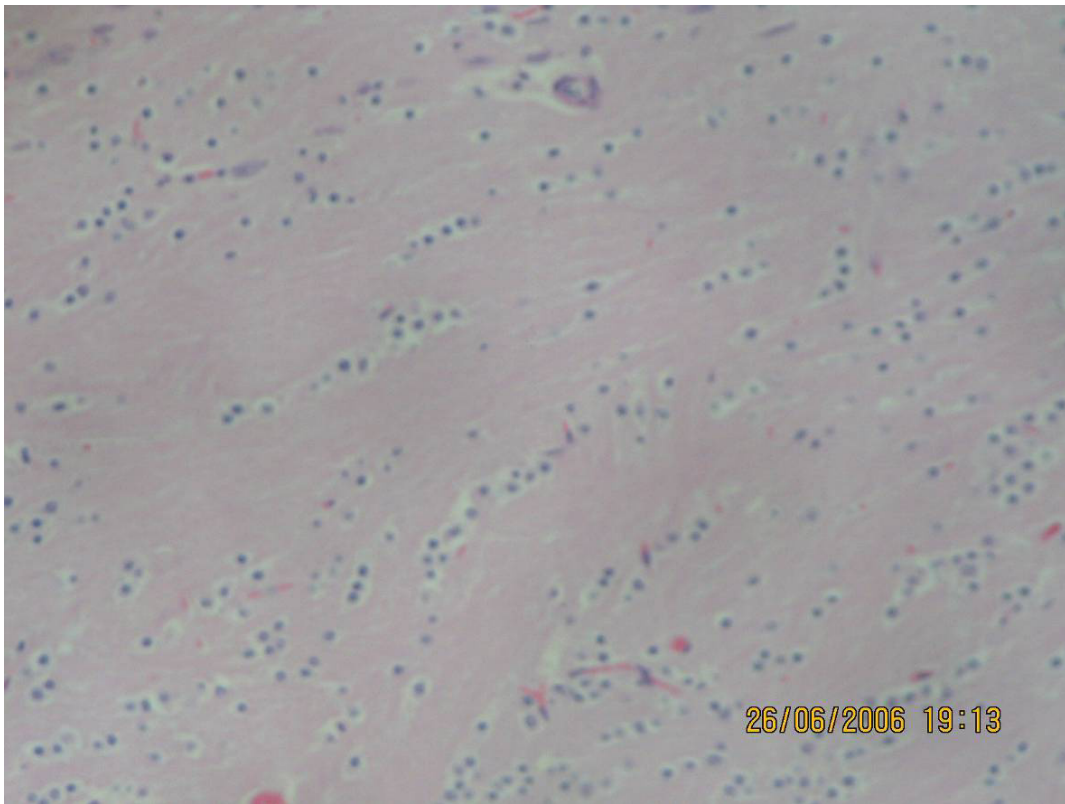




**GRUPO II: Parénquima Cerebral Derecho conservado y con marcada hiperemia**



**GRUPO III: Dilatación arteriolar e hiperemia. Parénquima conservado**

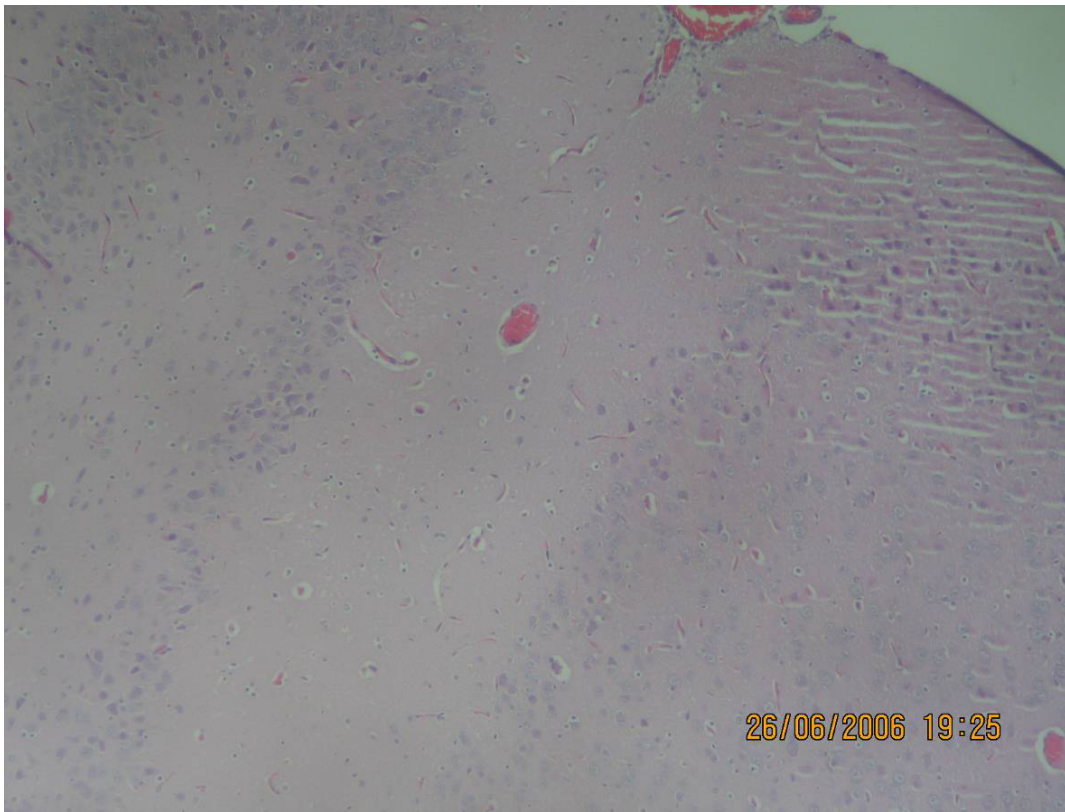


**GRUPO III: Neocapilarización marcada; migración leucocitaria muy escasa. Hiperemia arteriolar, Sustancia blanca conservada.**





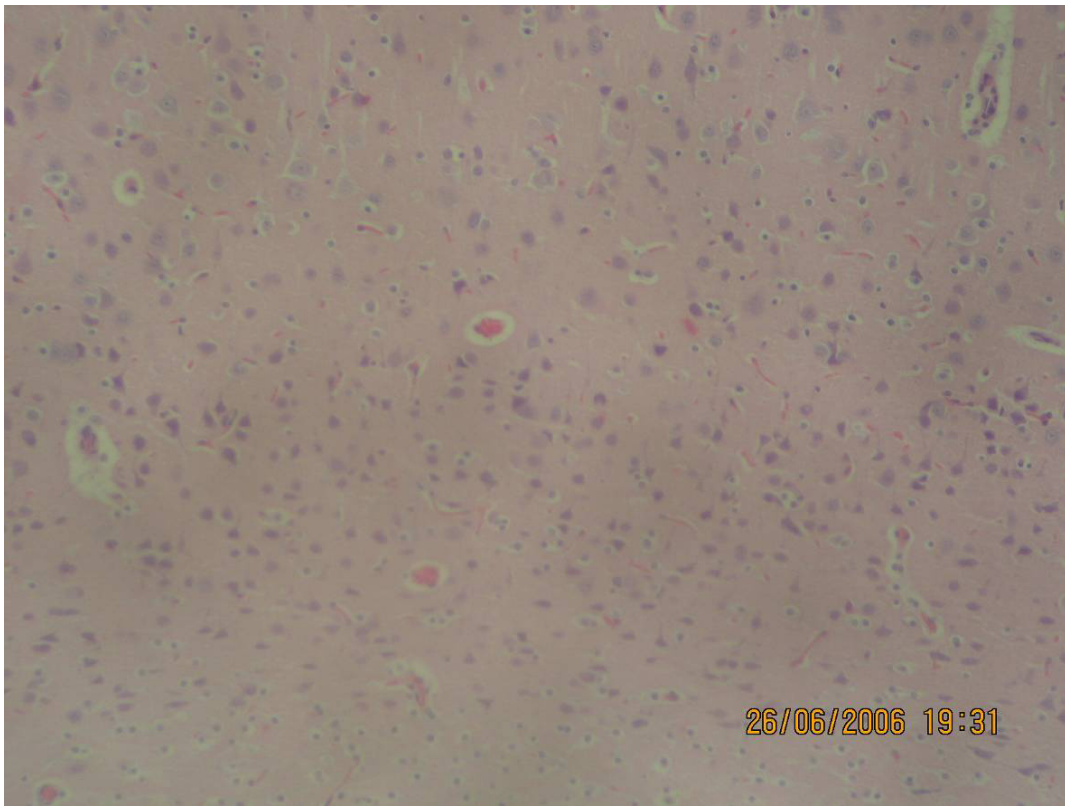
**GRUPO III: Parénquima cerebral conservado y simétrico. Neocapilarización marcada e hiperemia leve. Congestión vascular periférica.**



**GRUPO III: Neocapilarización cortical marcada. Hiperemia discreta parenquimal y periférica.**



**GRUPO III: Parénquima conservado. Congestión vascular periférica marcada, extravasación leve de hematíes**



**GRUPO III: Hiperemia arteriolar con leve dilatación y neocapilarización marcada**

## **X. INDICE**

| Tema:                                   | Página. |
|---|---------|
| • Resumen                               | 04.     |
| • Introducción                          | 05.     |
| • Marco teórico                         | 09.     |
| • Definición de la población de estudio | 37.     |
| • Definiciones operacionales            | 38.     |
| • Resultados                            | 41.     |
| • Discusión                             | 54.     |
| • Conclusiones                          | 60.     |
| • Bibliografía                          | 61.     |
| • Anexos                                | 65.     |
| • Índice                                | 83.     |